



**Otília Rodrigues
Pereira**

**Biodegradação anaeróbia de efluentes de lacticínios
em reactores SBR**



**Otília Rodrigues
Pereira**

**Biodegradação anaeróbia de efluentes de lacticínios
em reactores SBR**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Qualidade e Tratamento de Águas e Efluentes, realizada sob a orientação científica da Professora Doutora Maria Isabel Aparício Paulo Fernandes Capela, Professora Associada do Departamento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro.

o júri

Presidente

Prof. Dr. Luís Manuel Guerreiro Alves Arroja
professor associado da Universidade de Aveiro

Prof. Dr. Luís Manuel Ferreira de Melo
professor catedrático da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto

Prof. Dr.^a Maria Isabel Aparício Paulo Fernandes Capela
professora associada da Universidade de Aveiro

agradecimentos

Na etapa final deste desafio a que me propus não posso deixar de salientar a importância que algumas pessoas tiveram durante o seu desenrolar.

Quero agradecer à Prof. Dr.^a Maria Isabel Capela por todo o tempo disponibilizado, pelas orientações que me deu durante todo este trabalho experimental e durante a elaboração da tese. Pela ajuda, pelas sugestões e pelas críticas, o meu muito obrigada.

Um agradecimento muito especial vai para o Prof. Dr. Luís Arroja, pelos ensinamentos para além das salas de aula, pela partilha de conhecimentos e experiências e pela amizade.

Aos meus amigos Filipe Santos, Margarida Pinho e Marta Barbosa, por toda a ajuda e companheirismo, pela amizade, pelas longas conversas de laboratório, pela partilha de sentimentos, preocupações e desvarios! À Adelaide e ao Pedro, à Andreia e ao Gilberto, pela amizade que sempre demonstraram, muito obrigada.

À Micaela e à Joana Dias, que eu conheci tão pouco, com quem tive o grande prazer de trabalhar, com quem aprendi e partilhei algumas preocupações e muitas gargalhadas. Obrigada amigas!

Tudo isto não teria sido possível sem a ajuda e compreensão de toda a minha família, em especial dos meus lindos sobrinhos.

Ao Francisco agradeço todo o apoio, encorajamento e amizade com que enfrentou as más disposições e as preocupações. Obrigada por estares sempre do meu lado.

palavras-chave

Digestão anaeróbia, efluente de lacticínios, reactor SBR anaeróbio, tipo de inóculo, temperatura de operação, tempo de retenção hidráulico

resumo

O principal objectivo deste trabalho experimental foi avaliar o comportamento de reactores anaeróbios descontínuos sequenciais (SBR) no tratamento de efluentes complexos produzidos na indústria de lacticínios.

O trabalho baseou-se no estudo do efeito de vários parâmetros: tipo de inóculo (adaptado e não adaptado ao substrato complexo em causa); temperatura de operação (37°C e 55°C); e tempo de retenção hidráulico (TRH de 25d e 10d). Estes efeitos foram analisados em reactores operados em condições intermitentes de alimentação, na perspectiva de se evitar a acumulação de gordura e de outros materiais complexos no manto de lama, e de se melhorar a transformação do CQO removido em metano (CH₄). Os reactores SBR foram operados com um ciclo total de 24 horas, em que o tempo de sedimentação foi de 2 horas. Foram operados cinco reactores SBR anaeróbios, com controlo de pH: dois na gama mesofílica e com TRH=25d, sendo um inoculado com biomassa adaptada e outro com não adaptada; dois na gama termofílica e também com TRH=25d, sendo um inoculado com biomassa adaptada e outro não adaptada; e um quinto reactor mesofílico inoculado com biomassa adaptada, mas com um TRH=10d.

Durante a operação dos SBR verificou-se que a temperatura influencia muito o comportamento dos reactores, principalmente no que diz respeito à qualidade do efluente tratado. Quer para o inóculo adaptado quer para o não adaptado, verifica-se uma deterioração muito grande da qualidade do efluente tratado quando se opera na gama termofílica, independentemente da carga orgânica aplicada. O aumento de temperatura de 37°C para 55°C provoca também uma menor conversão do CQO removido a CH₄. Em condições estacionárias, todos os reactores mesofílicos apresentaram remoções de CQO superiores a 97%, enquanto nos reactores termofílicos esta percentagem baixou até 93% para a biomassa adaptada e 79% para a biomassa não adaptada.

Na gama mesofílica, a operação de reactores inoculados com biomassa adaptada produz um efluente tratado de melhor qualidade (CQO_f inferior), embora com conversões a CH₄ apenas ligeiramente superiores. Estas diferenças tornam-se bastante significativas nas cargas mais elevadas. Na gama termofílica, para as cargas mais baixas, o reactor inoculado com biomassa adaptada apresenta claramente um melhor desempenho na remoção de CQO. No entanto, para as cargas mais elevadas os desempenhos são muito similares, apesar do reactor inoculado com biomassa adaptada apresentar uma maior conversão de CQO a CH₄.

Nos reactores mesofílicos, o teor de CH_4 no biogás estabiliza à volta dos 60% para todas as cargas aplicadas, enquanto nos reactores termofílicos se verificam oscilações entre os 37% e os 71%, consoante a carga aplicada, a que correspondem períodos de acumulação de ácidos orgânicos voláteis (AOV). Na operação termofílica, a biomassa apresenta um maior decaimento, tanto a que proveio de um inóculo adaptado como a de um inóculo não adaptado.

Os ensaios realizados indicaram ainda que a diminuição do TRH de 25 para 10 dias não provocou alterações significativas na percentagem de remoção de CQO, mas levou a uma menor produção de biogás e a uma menor conversão do CQO removido a CH_4 .

Globalmente pode-se assim concluir que os reactores SBR anaeróbios a trabalhar na gama mesofílica e com inóculo adaptado apresentaram um efluente com uma melhor qualidade e uma conversão superior de CQO a metano.

keywords

Anaerobic digestion, dairy wastewater, anaerobic sequencing batch reactor (SBR), type of inoculum, process temperature, hydraulic retention time

abstract

The main objective of this work was to evaluate the performance of anaerobic sequencing batch reactors (SBR) treating complex wastewaters, such as dairy effluents.

This work was based on the study of the effects of several parameters: type of inoculum (adapted and not adapted to the complex substrates under study); process temperature (37°C and 55°C); and hydraulic retention time (HRT of 25d and 10d). These effects were studied using reactors operated in an intermittent feeding mode, in order to avoid the accumulation of fat and others complex materials in the sludge blanket, and improve the transformation of COD removed into methane (CH₄). The SBR reactors were operated with a total cycle of 24 hours, with two hours for sedimentation. Five anaerobic SBR reactors were operated, with pH control: two under mesophilic conditions and an HRT=25d, one inoculated with adapted and another with not adapted biomass; two under thermophilic conditions and an HRT=25d, one inoculated with adapted and another with not adapted biomass; and a fifth mesophilic reactor inoculated with adapted biomass, but with an HRT=10d.

During the operation of the SBR reactors, it was found that the temperature greatly influences reactor behavior, especially with regard to the quality of treated effluent. Either with adapted or not adapted biomass, there has been a great damage to effluent quality when the reactors are operated at thermophilic conditions, independently of the applied organic load. The increase in temperature from 37 °C to 55 °C also causes a lower conversion of COD removed to CH₄. In stationary conditions, all mesophilic reactors showed COD removals higher than 97%, whereas in the thermophilic reactors that percentage dropped to 93% for adapted biomass and to 79% for non-adapted biomass.

At mesophilic range, the operation of reactors inoculated with adapted biomass produces a better quality of treated effluent (lower CQO_t), though obtaining a CH₄ conversion only slightly higher. These differences become quite significant at higher loads. In the thermophilic range, and for the lower loads, the reactor inoculated with adapted biomass clearly presents a better performance in COD removal. However, for higher loads the performances are very similar, although the reactor inoculated with adapted biomass presents a greater conversion of COD to CH₄.

In the mesophilic reactors, the concentration of CH_4 in the biogas stabilizes at around 60% for all applied loads, whereas in the thermophilic reactors oscillations occur between 37% and 71%, depending on the applied load, corresponding to periods of high volatile fatty acids (VFA) accumulation. In thermophilic operation, biomass has a higher decay rate, either for adapted or non-adapted inoculum.

The experimental tests indicated that the decrease in HRT from 25 to 10 days led to a lower biogas production and a lower conversion of COD removed to CH_4 , but not significant changes in the percentage of COD removal.

In general, we can then conclude that anaerobic SBR reactors working at mesophilic range and using adapted inoculum showed an effluent with a better quality and a higher COD conversion to methane.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	ii
LISTA DE GRÁFICOS	ii
LISTA DE TABELAS	iii
ABREVIATURAS	v
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Enquadramento	1
1.2 Objectivos	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1 A digestão anaeróbia	11
2.1.1 A microbiologia da digestão anaeróbia	20
2.1.2 Processo mesofílico vs processo termofílico	22
2.2 A tecnologia SBR anaeróbia	26
2.3 O efluente da indústria de lacticínios	32
3 METODOLOGIA EXPERIMENTAL	41
3.1 Unidades laboratoriais	41
3.2 Condições de operação e plano experimental	44
3.3 Caracterização do substrato e inóculos	46
3.3.1 Substrato	46
3.3.2 Inóculos	47
3.4 Monitorização dos reactores	50
4 RESULTADOS EXPERIMENTAIS / DISCUSSÃO	53
4.1 Aclimatização da biomassa à temperatura termofílica	54
4.2 Resultados da operação dos reactores	57
4.2.1 Efeito do tipo de inóculo	57
4.2.2 Efeito da temperatura de operação	67
4.2.3 Efeito do TRH	78
5 CONCLUSÕES / PERSPECTIVAS FUTURAS	83
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87
ANEXO I - MÉTODOS ANALÍTICOS	95
ANEXO II - FACTORES DE CONVERSÃO	101
ANEXO III - RESULTADOS EXPERIMENTAIS	103

LISTA DE FIGURAS

Figura 2-1 Representação esquemática simplificada das etapas constituintes da digestão anaeróbia, baseada em Demirel e Scherer (2008), O'Flaherty <i>et al</i> (2006) e Pavlostathis e Giraldo-Gomez (1991). Os números representam os grupos microbiológicos envolvidos (ver Legenda).	14
Figura 2-2 Representação esquemática do funcionamento de um reactor ASBR. I - Fase de alimentação; II - Fase de reacção; III - Fase de sedimentação; IV - Fase de extracção do efluente tratado.	27
Figura 3-1 Fotografia de um reactor utilizado.	42
Figura 3-2 Esquema da montagem experimental (não está à escala).	43
Figura 3-3 Montagem experimental.	43
Figura 3-4 Pormenor da tampa de vidro.	43

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1-1 Valores de recolha de leite de vaca e de produção total de leite para consumo em Portugal (Janeiro de 2007 a Dezembro de 2009). Adaptado de INE.	2
Gráfico 4-1 Aclimatização da biomassa não adaptada, Reactor C.	55
Gráfico 4-2 Produção de AOV durante o período de aclimatização da biomassa não adaptada, Reactor C.	55
Gráfico 4-3 Evolução do CQO _f do efluente tratado e da produção de biogás (em condições PTN) com o aumento de carga orgânica volúmica, para T = 37°C e TRH = 25d. Reactor A: inóculo adaptado; Reactor B: inóculo não adaptado.	58
Gráfico 4-4 Valores de CQO _f do efluente tratado e de produção diária de metano em função da carga aplicada, gráfico a), e produção específica de metano em função de F/M, gráfico b), para T = 37°C e TRH = 25d. Reactor A: inóculo adaptado; Reactor B: inóculo não adaptado.	59
Gráfico 4-5 Distribuição dos AOV formados,	61
Gráfico 4-6 Evolução do CQO _f do efluente tratado e da produção de biogás (em condições PTN) com o aumento de carga orgânica volúmica, para T = 55°C e TRH = 25d. Reactor C: inóculo não adaptado.	63
Gráfico 4-7 Evolução do CQO _f do efluente tratado e da produção de biogás (em condições PTN) com o aumento de carga orgânica volúmica, para T = 55°C e TRH = 25d. Reactor E: inóculo adaptado.	64
Gráfico 4-8 Valores de CQO _f do efluente tratado e de produção diária de metano em função da carga aplicada, gráfico a), e produção específica de metano em função de F/M, gráfico b), para T = 55°C e TRH = 25d. Reactor C: inóculo não adaptado; Reactor E: inóculo adaptado.	65
Gráfico 4-9 Distribuição dos AOV formados, para T = 55°C e TRH = 25d. Reactor C: inóculo não adaptado; Reactor E: inóculo adaptado.	66

Gráfico 4-10 Teor em metano no biogás formado e perfil de acumulação de AOV nos reactores inoculados com biomassa adaptada, para TRH = 25d. Reactor A: 37°C; Reactor E: 55°C.	68
Gráfico 4-11 Valores de CQO _f do efluente tratado e da produção diária de metano em função da carga aplicada, gráfico a), e produção específica de metano em função de F/M, gráfico b), nos reactores inoculados com biomassa adaptada e TRH = 25d. Reactor A: 37°C; Reactor E: 55°C.	70
Gráfico 4-12 Evolução da concentração de biomassa adaptada nos Reactores A (mesofílico) e E (termofílico).	71
Gráfico 4-13 Teor em metano no biogás formado e perfil de acumulação de AOV nos reactores inoculados com biomassa não adaptada, para TRH = 25d. Reactor B: 37°C; Reactor C: 55°C.	73
Gráfico 4-14 Evolução da concentração em AOV do efluente tratado consoante a carga aplicada durante a operação do Reactor C.	73
Gráfico 4-15 Evolução da concentração de biomassa não adaptada nos Reactores B (mesofílico) e C (termofílico).	74
Gráfico 4-16 Valores de CQO _f do efluente tratado e da produção diária de metano em função da carga aplicada, gráfico a), e produção específica de metano em função de F/M, gráfico b), nos reactores inoculados com biomassa não adaptada e TRH = 25d. Reactor B: 37°C; Reactor C: 55°C.	75
Gráfico 4-17 Evolução do pH no decorrer de toda a operação dos reactores.	77
Gráfico 4-18 Evolução da alcalinidade no decorrer de toda a operação dos reactores.	77
Gráfico 4-19 Evolução do CQO _f do efluente tratado e da produção de biogás (em condições PTN) com o aumento de carga orgânica volúmica, para T = 37°C e inóculo adaptado. Reactor D: TRH = 10d.	79
Gráfico 4-20 Valores de CQO _f do efluente tratado e de produção diária de metano em função da carga aplicada, gráfico a), e produção específica de metano em função de F/M, gráfico b), nos reactores inoculados com biomassa adaptada e T = 37°C. Reactor A: 25d; Reactor D: 10d.	80
Gráfico 4-21 Distribuição dos AOV formados, para T = 37°C e inóculo adaptado. Reactor A: TRH = 25d; Reactor D: TRH = 10d.	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-1 Valores de consumos de energia e de água e de produção de efluentes em três processos de transformação de leite. Adaptado de European Commission (2006).	3
Tabela 1-2 Valores de consumo de água e de produção de efluentes na produção de leite para consumo, para o ano de 2009, assumindo uma massa volúmica do leite igual a 1 kg/L.	4
Tabela 1-3 Aplicação do processo anaeróbio ao tratamento de efluentes industriais para um total de 2284 instalações. Dados obtidos nos censos de Janeiro de 2007 e adaptados de van Lier (2008).	6
Tabela 2-1 Valores de ΔG para algumas das reacções acetogénicas e metanogénicas mais relevantes. Baseada em O'Flaherty <i>et al</i> (2006) e van Lier <i>et al</i> (1993).	18
Tabela 2-2 Vantagens e desvantagens da digestão anaeróbia termofílica, em comparação com a mesofílica.	22
Tabela 2-3 Resumo de alguns dos mais recentes estudos que servem de comparação entre a digestão anaeróbia mesofílica e termofílica.	23
Tabela 2-4 Resultados obtidos nos estudos mais recentes utilizando reactores ASBR e diversos tipos de efluentes.	29

Tabela 2-5 Valores característicos da composição dos efluentes da indústria de laticínios. Adaptado de Demirel e Yenigün (2006).	33
Tabela 2-6 Apresentação de alguns estudos realizados nos últimos anos, utilizando como substrato um efluente de laticínios.....	36
Tabela 3-1 Dimensões dos reactores.	42
Tabela 3-2 Condições de operação de cada um dos reactores.....	44
Tabela 3-3 Composição das soluções de macro e micronutrientes adicionadas a cada alimentação (adaptado de Nadais, 2001).....	46
Tabela 3-4 Características físico-químicas do leite. Análises realizadas no momento de abertura de cada pacote.	47
Tabela 3-5 Caracterização físico-química dos inóculos utilizados.	49
Tabela 3-6 Compilação das várias quantidades de leite e biomassa utilizadas no dia do arranque dos reactores, consoante as condições operatórias do reactor.	50
Tabela 3-7 Parâmetros e periodicidade da realização das análises físico-químicas na monitorização dos reactores.	51
Tabela 4-1 Cronograma do trabalho experimental.	53
Tabela I- 1 Rectas de calibração utilizadas no cálculo da concentração de cada AOV.	98
Tabela I- 2 Condições de operação do cromatógrafo gás-líquido para determinação de AOV.	98
Tabela I- 3 Rectas de calibração utilizadas no cálculo da composição do biogás.	99
Tabela I- 4 Condições de operação do cromatógrafo gasoso para determinação da composição de biogás....	99
Tabela III- 1 Resultados de estado estacionário do Reactor A - Mesofílico, inóculo adaptado, TRH=25d....	103
Tabela III- 2 Resultados de estado estacionário do Reactor B - Mesofílico, inóculo não adaptado, TRH=25d.	105
Tabela III- 3 Resultados de estado estacionário do Reactor C - Termofílico, inóculo não adaptado, TRH=25d.	107
Tabela III- 4 Resultados de estado estacionário do Reactor D - Mesofílico, inóculo adaptado, TRH=10d.	109
Tabela III- 5 Resultados de estado estacionário do Reactor E - Termofílico, inóculo adaptado, TRH=25d.	111

ABREVIATURAS

AGCL	Ácido gordo de cadeia longa
AOV	Ácidos orgânicos voláteis
AOV _T	Ácidos orgânicos voláteis totais
ASBR	Reactor anaeróbio descontínuo de operação sequencial (do inglês Anaerobic Sequencing Batch Reactor)
CBO	Carência bioquímica de oxigénio
CQO _t	Carência química de oxigénio total
CQO _f	Carência química de oxigénio do filtrado
C _v	Carga orgânica volúmica
ETAR	Estação de tratamento de águas residuais
F/M	Razão Substrato/Biomassa (do inglês Food/Microorganisms)
HAc	Ácido acético
HBut	Ácido butírico
HProp	Ácido propiónico
O&G	Óleos e gorduras
OHPA	Acetogénese com produção obrigatória de hidrogénio (do inglês Obligate Hydrogen Producing Acetogenesis)
PEM	Produção específica de metano
%R _{CQO}	Percentagem de remoção de CQO
SS	Sólidos suspensos
SST	Sólidos suspensos totais
SSV	Sólidos suspensos voláteis
ST	Sólidos totais
SV	Sólidos voláteis
TRH	Tempo de retenção hidráulico
TRS	Tempo de retenção de sólidos

1 INTRODUÇÃO

1.1 Enquadramento

O crescimento da população mundial tem provocado uma corrida desenfreada a alguns produtos alimentares, principalmente aqueles que fazem parte da alimentação básica do Homem. Mas não é só este crescimento que tem alterado as regras da oferta e da procura: a mudança dos hábitos alimentares da grande maioria das pessoas e a procura de novas fontes de energia são alguns outros exemplos de como a actividade humana se desenvolve e afecta o meio que a envolve. Por outro lado, o consumo excessivo e o desperdício de água doce, aliados às alterações climáticas têm provocado grandes problemas no abastecimento de água potável a milhões de pessoas em todo o mundo.

Neste contexto, as indústrias alimentares, nomeadamente as indústrias de processamento de leite, carne, peixe, cereais e algumas outras, têm tido a necessidade de aumentar as suas produções, resultando tanto num maior consumo de matérias-primas como num aumento dos resíduos produzidos, sejam eles sólidos ou líquidos.

A indústria dos alimentos, bebidas e leite (do inglês FDM - Food, Drink and Milk Industries, assim designada pela Comissão Europeia no documento *Integrated Pollution Prevention and Control*) produz não só produtos destinados ao consumo como também produtos intermediários destinados a um processamento posterior. É um sector que engloba uma infinidade de indústrias com diferentes tamanhos e naturezas, um vasto leque de matérias-primas, produtos e processos e engloba ainda empresas situadas em zonas industrializadas e em zonas rurais (European Commission, 2006). Todas estas variáveis fazem com que os efluentes líquidos e os resíduos gerados por esta actividade sejam muito distintos entre si, quer em quantidade quer em qualidade.

Os requisitos de higiene e segurança alimentares obrigam, por exemplo, ao uso de detergentes e água quente, e a limpezas frequentes das instalações industriais. É fácil compreender portanto, que a implementação destas medidas levará tanto ao aumento dos efluentes líquidos produzidos (e a uma alteração das suas características) como também ao aumento das necessidades de consumo de água potável e de energia (European Commission, 2006).

Um efluente líquido não tratado típico destas indústrias apresenta concentrações elevadas de matéria orgânica, quer em termos de Carência Química de Oxigénio (CQO), quer em termos de Carência Bioquímica de Oxigénio (CBO). O teor em sólidos pode ser baixo ou muito elevado e normalmente, também apresentam concentrações elevadas de óleos e gorduras (O&G) e de fósforo (P) (European Commission, 2006).

Em Portugal, o sector dos lacticínios tem sofrido algumas alterações, principalmente devido à modificação das cotas leiteiras definidas pela União Europeia. Os dados de recolha de leite de vaca e da sua transformação em leite para consumo em território português, são apresentados no Gráfico 1-1, onde se pode analisar a evolução deste sector nos últimos três anos (Janeiro de 2007 a Dezembro de 2009).

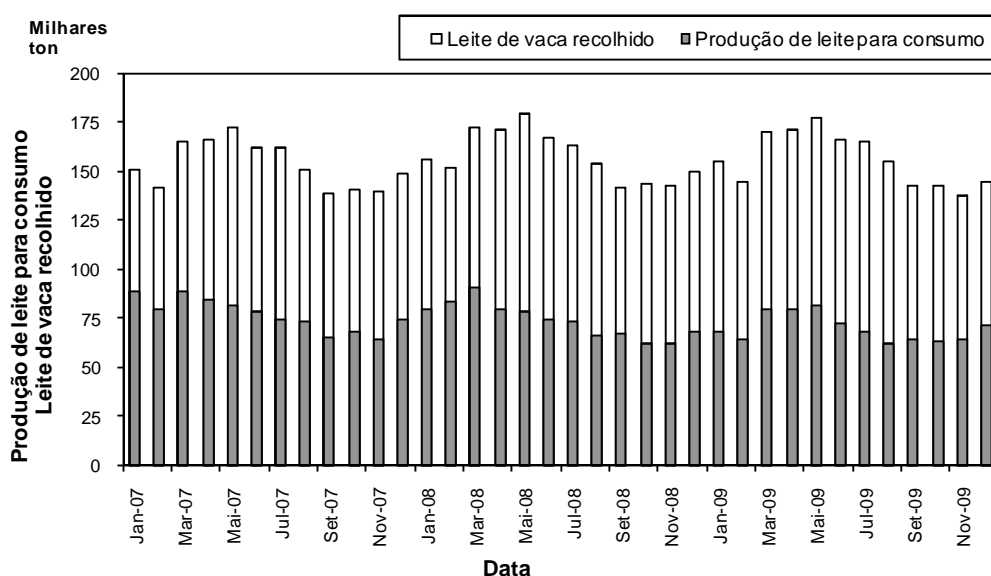


Gráfico 1-1 Valores de recolha de leite de vaca e de produção total de leite para consumo em Portugal (Janeiro de 2007 a Dezembro de 2009). Adaptado de INE.

A análise deste gráfico permite constatar que a recolha de leite e a sua transformação em leite para consumo são actividades com alguma sazonalidade, ocorrendo em maior quantidade nos meses de Verão. De todos os meses analisados neste estudo, verifica-se que em todos os anos, o mês no qual ocorre uma maior recolha de leite de vaca é o mês de Maio, enquanto que o mês onde ocorre uma menor recolha de leite é o mês de Novembro.

Na globalidade, verifica-se que a percentagem de leite de vaca recolhido que é usado para produção de leite para consumo não se alterou significativamente com o tempo, podendo dizer-se que se situa entre 40% e 59%. A produção de leite para consumo utiliza assim aproximadamente metade do total de leite de vaca recolhido.

Não existe actualmente um levantamento de dados que permita saber exactamente a poluição gerada por este sector de actividade embora, Danalewich *et al* (1998) e Demirel *et al* (2005) refiram que esta provém na sua maioria, da limpeza das linhas de transporte e de equipamentos entre ciclos de produção, da limpeza de camiões de transporte e de reservatórios de leite, de problemas no funcionamento de equipamentos e erros de operação. Essa informação pode ser estimada a partir dos dados da Tabela 1-1, onde se apresentam os valores típicos de consumos de energia e de água e de produção de efluentes em três tipos de actividade: produção de leite, produção de leite em pó e produção de gelados.

Tabela 1-1 Valores de consumos de energia e de água e de produção de efluentes em três processos de transformação de leite. Adaptado de European Commission (2006).

	Consumo de energia	Consumo de água	Produção de efluentes
Produção de leite a partir de 1 L de leite recebido	0,07 - 0,2 kWh/L	0,6 - 1,8 L/L	0,8 - 1,7 L/L
Produção de leite em pó a partir de 1 L de leite recebido	0,3 - 0,4 kWh/L	0,8 - 1,7 L/L	0,8 - 1,5 L/L
Produção de 1 kg de gelado	0,6 - 2,8 kWh/kg	4,0 - 5,0 L/kg	2,7 - 4,0 L/kg

O cruzamento desta informação com os dados do Gráfico 1-1 permite obter os resultados constantes da Tabela 1-2.

Tabela 1-2 Valores de consumo de água e de produção de efluentes na produção de leite para consumo, para o ano de 2009, assumindo uma massa volúmica do leite igual a 1 kg/L.

Ano de 2009	
Consumo anual de água na produção de leite para consumo (m ³ / 1000)	Produção anual de efluentes na produção de leite para consumo (m ³ / 1000)
561 - 1.682	748 - 1.589

Os dados desta tabela foram obtidos considerando que o leite recebido para produção de leite para consumo foi 50% do total de leite de vaca recolhido no período em questão. Desta forma, a base de cálculo é o litro de leite recebido e não o litro de leite para consumo produzido.

Os valores reais para cada indústria dependem de vários factores, tais como : existência ou não de um plano de manutenção; aplicação de metodologias de prevenção e minimização dos consumos de água, de energia e da produção de resíduos; e implementação de um plano de monitorização e de revisão dos limites de emissão para todos os sub-processos produtivos de cada indústria.

A Comissão Europeia (European Commission, 2006) refere que no sector dos lacticínios os factores mais importantes a ter em conta em termos ambientais, são:

- A produção de efluentes;
- A utilização de produtos químicos;
- A poluição atmosférica;
- A poluição sonora;
- Os odores;
- A produção de resíduos sólidos;
- A utilização de energia para aquecimento, arrefecimento e refrigeração.

Este sector produz efluentes líquidos ricos em compostos orgânicos biodegradáveis e nutrientes, mas normalmente, também contêm elevados teores em gorduras e proteínas, que apresentam uma baixa biodegradabilidade. Uma parte destas gorduras e proteínas pode ser removida nas estações de tratamento de efluentes líquidos por processos físico-químicos que actuem antes do processo biológico, mas o elevado custo dos reagentes

químicos necessários e a baixa eficiência de remoção de matéria orgânica solúvel tornam estes processos pouco atractivos (Cammarota e Freire, 2006; Demirel *et al*, 2005). Neste caso, para além de se estarem a gastar recursos, está-se a desperdiçar uma fonte de energia renovável - o biogás - que é produzido quando se aplica um processo biológico anaeróbio ao tratamento dos efluentes líquidos. Aliás, os efluentes com estas características são referidos por muitos autores como possuidores de um elevado potencial para a produção de energia através da utilização do biogás (Hatamoto *et al*, 2007; Pereira *et al*, 2003).

Actualmente, são usadas várias tecnologias no tratamento deste tipo de efluentes, desde o processo por lamas activadas, no caso do tratamento biológico aeróbio, até ao processo biológico anaeróbio. Apesar de ambos os processos apresentarem várias vantagens e desvantagens (ver Capítulo 2, ponto 2.1), a digestão anaeróbia tem sido referida como o processo mais adequado para o tratamento de efluentes industriais com elevado teor de matéria orgânica, como é o caso dos efluentes deste tipo de indústria.

Na verdade, o tratamento por digestão anaeróbia de efluentes com teores médios ou elevados de matéria orgânica é actualmente reconhecido como um processo com provas dadas. Uma das maiores razões para o sucesso da digestão anaeróbia foi a introdução dos reactores de alta carga (*high-rate reactors*) onde os tempos de retenção de sólidos (TRS) e hidráulico (TRH) são independentes (van Lier, 2008). Estes reactores podem ser alimentados com cargas orgânicas elevadas devido à elevada concentração de biomassa existente nos reactores (van Lier *et al*, 1996), para além de permitirem que os microrganismos de crescimento lento permaneçam no sistema, independentemente do caudal utilizado (Nadai, 2001).

van Lier (2008) mostrou, no seu estudo sobre a evolução da aplicação da digestão anaeróbia no tratamento de efluentes orgânicos, que esta tem crescido quase exponencialmente desde a década de 70 até ao ano de 2006. Mostrou ainda que uma grande parte das indústrias que implementou este processo faz parte do sector agro-alimentar (Tabela 1-3). Para além disso, tem-se também verificado um rápido crescimento na aplicação do processo biológico anaeróbio a sectores não-alimentares.

Tabela 1-3 Aplicação do processo anaeróbio ao tratamento de efluentes industriais para um total de 2266 instalações. Dados obtidos nos censos de Janeiro de 2007 e adaptados de van Lier (2008).

Sector industrial	Tipo de indústria / actividade	Número de instalações	%
Agro-alimentar	Açúcar, batata, amido, fermento, pectina, ácido cítrico, conservas, pastelaria, fruta, vegetais, leite, padaria	816	36
Bebidas	Cerveja, malte, vinho, sumos, café	657	30
Destilarias	Sumos enlatados, melaço, vinho, cereais	227	10
Pasta e Papel	Papel reciclado, palha, bagaço	249	11
Diversos	Produtos químicos e farmacêuticos, “licor” das lamas, lixiviados de aterros, águas das minas, efluentes municipais	317	14

Alguns estudos efectuados nos últimos anos demonstraram que num reactor biológico são vários os factores que contribuem para o desenvolvimento das comunidades microbianas, nomeadamente o design do reactor, as condições de operação e a composição do efluente a tratar. Normalmente, quanto mais complexa for a composição do efluente mais diversificada será a comunidade biológica, quando comparada com as comunidades desenvolvidas com substratos simples ou com poucos componentes (Levén *et al*, 2007).

No entanto, tanto as comunidades mais diversificadas como as mais “simples” são fortemente influenciadas pela temperatura de operação, que afecta, não só a velocidade de crescimento dos microrganismos, como também a sua sobrevivência. São normalmente reportadas duas gamas de temperatura óptimas de funcionamento de reactores anaeróbios: a gama mesofílica (30-40°C) e a gama termofílica (50-60°C), dado ter sido dada pouca importância à gama psicofílica ($T < 20^{\circ}\text{C}$) (McHugh *et al*, 2006). Isto acontecerá porque se sabe que a diminuição da temperatura de operação provoca uma diminuição da velocidade de reacção e um decréscimo da taxa máxima de utilização de substrato, da taxa máxima específica de crescimento de microrganismos e da taxa de produção de biogás (McCarty, 1964; McHugh *et al*, 2006).

Até à década de 90, a digestão anaeróbia termofílica foi pouco aplicada, provavelmente devido aos resultados desanimadores obtidos por alguns investigadores. A digestão termofílica, quando comparada com a mesofílica, apresenta-se menos estável, tendo sido

demonstrado que os reactores a operar nesta gama seriam mais susceptíveis a flutuações de temperatura (van Lier *et al*, 1996).

No entanto, Cammarota e Freire (2006) referem por exemplo, que a presença de óleos e gorduras está associada a vários problemas processuais, como a redução dos fenómenos de transferência meio aquoso - células, podendo causar “incómodos” durante o tratamento anaeróbio mesofílico, quando não são removidos previamente ao tratamento biológico. Quando o processo opera em condições termofílicas, esses compostos podem ficar mais acessíveis aos microrganismos.

Já nos anos 50, os investigadores defenderam que era necessário manter uma elevada concentração de biomassa dentro dos reactores para compensar os problemas processuais associados aos processos anaeróbios. Desta forma, conseguir-se-ia uma boa eficiência de remoção de matéria orgânica. A elevada concentração de biomassa nos reactores e a baixa concentração de sólidos biológicos no efluente tratado resulta em valores elevados de TRS, verificando-se assim, que a separação dos microrganismos do efluente tratado, e a sua recirculação para o reactor, ajudava a manter uma grande quantidade de microrganismos metanogénicos necessários ao tratamento de vários efluentes industriais (Ndon e Dague, 1997).

Os reactores anaeróbios descontínuos de operação sequencial (ASBR) foram desenvolvidos por Dague e os seus colaboradores na Universidade de Iowa na década de 90. O desenvolvimento deste tipo de reactor teve como base os seus estudos de doutoramento (1967) onde estudou vários métodos para aumentar a concentração de biomassa nos reactores anaeróbios. Esses estudos incluíram a alimentação descontínua, a separação dos sólidos no interior do reactor e a extracção do sobrenadante (efluente tratado). Na altura, a tecnologia ficou denominada como “lamas activadas anaeróbia” (anaerobic activated sludge) onde era possível atingir TRS elevados e TRH relativamente baixos, como resultado da biofloculação da biomassa e da eficiente separação dos sólidos biológicos (Sung e Dague, 1995).

Estes reactores funcionam em ciclos sequenciais de alimentação + reacção + sedimentação + extracção do efluente tratado. Quando necessário, e tendo em conta que a biomassa anaeróbia apresenta taxas de crescimento mais baixas, é efectuada a purga das lamas em excesso para manter uma concentração óptima de biomassa dentro do reactor.

De acordo com Zaiat *et al* (2001), os principais factores que afectam o desempenho de reactores operados de forma descontínua são: a intensidade de agitação, a razão inicial entre a concentração de substrato e a concentração de biomassa (razão F/M), a configuração geométrica do reactor e a estratégia de alimentação.

A razão F/M é apontada como uma das maiores vantagens deste tipo de reactor, constituindo uma força motriz para o processo de digestão anaeróbia: valores iniciais elevados de F/M resultam numa actividade metabólica elevada, promovendo a remoção de substrato e a produção de biogás. Quando a razão F/M é baixa, o reactor está preparado para iniciar a terceira fase, a fase de sedimentação. Nesta fase, a produção de biogás é baixa, permitindo a biofloculação da biomassa e a sua sedimentação, ao contrário do que acontece com os reactores contínuos, onde esta razão é constante. Como a biofloculação é uma resposta dos microrganismos a limitações do substrato, o modo de operação dos reactores ASBR selecciona automaticamente a biomassa granular, em detrimento da biomassa dispersa (Ndon e Dague, 1997).

Estes reactores podem ser aplicados de maneira especialmente vantajosa em situações onde a produção de efluente não é contínua, como acontece, por exemplo, na produção de vinho e de azeite, cujo maior caudal acontece apenas uma vez por ano, ou no processamento do leite, onde se verifica alguma sazonalidade (Gráfico 1-1).

1.2 Objectivos

O principal objectivo deste trabalho é a avaliação do comportamento de reactores SBR anaeróbios para o tratamento de efluentes produzidos na indústria de lacticínios, quando estes são operados em condições intermitentes de alimentação. O período de paragem da alimentação neste tipo de reactores irá permitir a degradação de substratos complexos presentes, como é o caso da gordura, evitando assim a sua acumulação e o consequente *washout* da biomassa a longo prazo. Este objectivo geral engloba alguns objectivos mais específicos, como o estudo do efeito de alguns parâmetros de operação no desempenho de reactores ASBR. Os parâmetros em estudo são:

- A temperatura de operação: foram estudadas duas gamas de temperatura, a gama mesofílica (37°C) e a gama termofílica (55°C).
- O tipo de inóculo: foi utilizada uma biomassa recolhida num digestor anaeróbio mesofílico que trata as lamas secundárias em excesso de uma estação de tratamento de águas residuais urbanas (biomassa não adaptada ao substrato em estudo), e outra recolhida num digestor anaeróbio, também mesofílico, que trata o efluente de uma indústria de processamento de leite (biomassa adaptada ao substrato em estudo).
- O tempo de retenção hidráulico (TRH): foram estudados dois tempos, o primeiro de 25 dias e um segundo de 10 dias.
- A carga orgânica volúmica (Cv) aplicada: foram estudadas várias cargas para cada condição de operação estudada.

O desempenho dos reactores foi analisado através da monitorização de vários parâmetros, como:

- A eficiência de remoção de matéria orgânica, em termos de CQO.
- As produções diárias de biogás e de metano (CH₄).
- A composição do biogás, no respeitante aos teores de metano e de dióxido de carbono (CO₂).
- A concentração de ácidos orgânicos voláteis (AOV) (produtos intermediários do processo biológico anaeróbio) no efluente tratado.
- A alcalinidade e o pH do efluente tratado.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia é um processo biológico de decomposição da matéria orgânica que se processa na ausência de oxigénio molecular livre, tendo como principal produto final o biogás. O biogás é constituído principalmente por CH_4 e CO_2 e, se capturado, pode ser utilizado como fonte de energia (Dugba e Zhang, 1999). É um processo que começou por ser muito utilizado na digestão anaeróbia de lamas provenientes de estações de tratamento de águas residuais (ETAR) (Ndon e Dague, 1997) mas que, actualmente, é utilizado tanto na degradação de outros resíduos, como a fracção orgânica de resíduos sólidos (Montero *et al*, 2008), como de efluentes líquidos.

A digestão anaeróbia é apontada como um processo que apresenta muitas vantagens em relação aos sistemas aeróbios. De todas as vantagens conhecidas, as que são regularmente referenciadas por uma grande maioria dos autores (Azbar *et al*, 2001; Demirel *et al*, 2005; van Lier, 2008; van Lier *et al*, 1994, 1996; Nadais, 2001; Qasim, 1999) são:

- Produção de energia na forma de CH_4 , ao mesmo tempo que é desnecessário gastar energia para arejamento. Este facto é importante pois em alguns casos, nomeadamente no tratamento de efluentes com elevada carga orgânica, poderão ocorrer limitações no fornecimento de oxigénio, tornando a sua concentração um factor determinante para o sucesso do processo.
- Produção de cerca de 13,5 MJ de energia, na forma de CH_4 , por cada kg de CQO removido (corresponde a 1,5 kWh, se for assumida uma eficiência de conversão de 40%).

- Menor produção de biomassa (cerca de 90%), o que faz baixar os custos do tratamento/deposição final das lamas em excesso produzidas.
- Menores necessidades nutricionais.
- A biomassa anaeróbia pode ser preservada durante longos períodos de tempo sem alimentação, o que torna este processo adequado para efluentes sazonais.
- Este processo torna-se particularmente atractivo no caso dos efluentes que são produzidos e descarregados a temperaturas mais elevadas, quando se utilizam reactores a operar a temperaturas mais elevadas (gama termofílica).
- Possibilidade de se poderem aplicar cargas mais elevadas (até 20-35 kgCQO/m³/d), nomeadamente em tecnologias mais desenvolvidas, o que torna possível a redução do tamanho dos reactores.

Em contrapartida, a digestão anaeróbia também é apontada como um processo que apresenta algumas desvantagens, tais como:

- Baixa taxa de crescimento dos microrganismos anaeróbios. Este facto pode provocar a falha de todo o sistema no caso de haver grande perda de biomassa no efluente tratado, dado esta não ser reposta atempadamente por novas células. No entanto, é este factor que promove uma das grandes vantagens dos sistemas anaeróbios: é devido ao baixo crescimento celular que se deve a baixa produção de sólidos biológicos (lamas em excesso), que terão obrigatoriamente de ser posteriormente tratados/depositados (Ndon e Dague, 1997).
- Como resultado do crescimento lento da biomassa anaeróbia é necessário que os reactores operem a TRS elevados. Devido ao baixo crescimento biológico, qualquer perturbação no sistema será mais difícil de recuperar, o que pode provocar uma diminuição prolongada da qualidade do efluente (Cavaleiro *et al*, 2001).
- Quando se está a tratar um efluente com carga orgânica mais baixa (CQO < 1000mg/L) a produção de CH₄ é também mais baixa. Neste sentido, a utilização do biogás para a produção da energia necessária ao processo poderá não ser suficiente. Nestes casos poderá ser conveniente operar os reactores à temperatura

ambiente (Ndon e Dague, 1997) ou a temperaturas mais baixas do que as típicas neste processo.

No passado, a maioria destas desvantagens resultou de uma incorrecta operação dos reactores e do desconhecimento do funcionamento dos sistemas anaeróbios. Actualmente, estas desvantagens são ultrapassadas mediante a tomada de medidas preventivas. O estudo de diversos parâmetros como a configuração do sistema, a temperatura de operação, a imobilização da biomassa, o pH, os requisitos nutricionais e a complexidade do substrato (Azbar *et al*, 2001), aliados ao conhecimento de alguma da dinâmica do consórcio de microrganismos (Cavaleiro *et al*, 2001), fazem da digestão anaeróbia actualmente um processo muito popular.

A performance de um reactor anaeróbio é determinada pela quantidade de microrganismos activos dentro do sistema (Demirel e Yenigün, 2006; Solera *et al*, 2002), pelas condições de operação do reactor, pela configuração do sistema, pelas características do efluente a tratar e pelos parâmetros que devem ser monitorizados (Mohan *et al*, 2005; Solera *et al*, 2002). Este é um processo onde coexistem, no mesmo reactor, várias espécies de microrganismos. É um processo multi-etápico, sequencial e interdependente, onde o produto de uma etapa é o substrato da etapa seguinte. A eficiência de todo o processo obriga a um equilíbrio dentro do consórcio de microrganismos de modo a que não ocorra nem a acumulação de um produto nem o défice de um substrato. No geral, o processo anaeróbio pode ser dividido em 4 grandes etapas: hidrólise, acidogénese, acetogénese e metanogénese, e pode ser esquematizado tal como apresentado na Figura 2-1.

Quando o processo está em equilíbrio, os microrganismos metanogénicos consomem os ácidos orgânicos voláteis (AOV) formados à mesma velocidade com que os microrganismos acidogénicos e acetogénicos os formam (McCarty, 1964). Apenas desta forma se evita a acumulação destes produtos intermediários do processo anaeróbio.

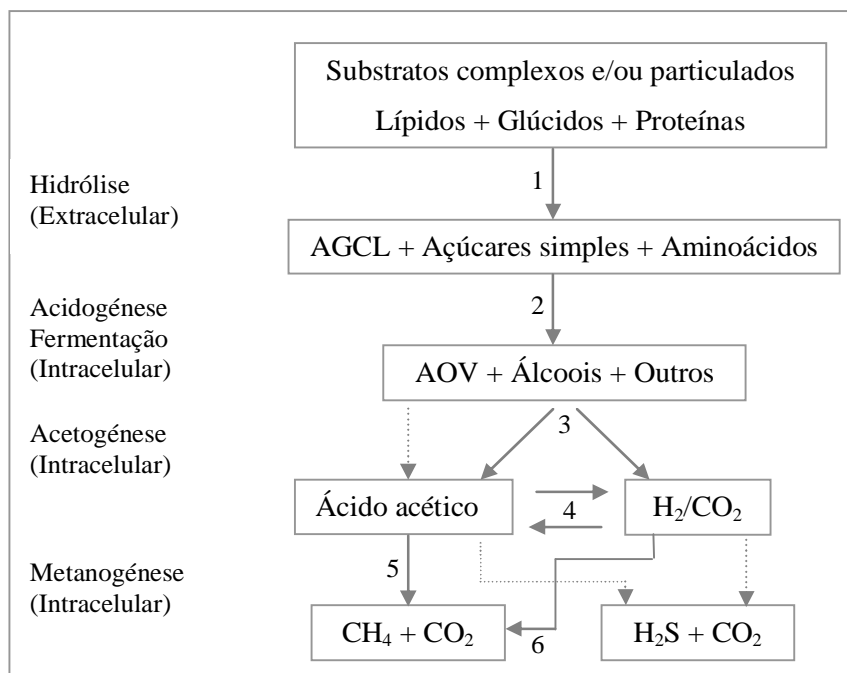


Figura 2-1 Representação esquemática simplificada das etapas constituintes da digestão anaeróbia, baseada em Demirel e Scherer (2008), O'Flaherty *et al* (2006) e Pavlostathis e Giraldo-Gomez (1991). Os números representam os grupos microbiológicos envolvidos (ver Legenda).

- Legenda:**
- 1 - Bactérias hidrolíticas
 - 2 - Bactérias acidogénicas / fermentativas
 - 3 - Bactérias acetogénicas produtoras obrigatórias de hidrogénio (H_2) - Acetogénese com produção obrigatória de H_2 (OHPA)
 - 4 - Bactérias homoacetogénicas (redutoras e oxidantes). Competem com as metanogénicas acetoclásticas
 - 5 - Metanogénicas acetoclásticas
 - 6 - Metanogénicas hidrogenofílicas
- Setas a tracejado - acção das bactérias sulfato-redutoras

HIDRÓLISE Os substratos presentes nos efluentes orgânicos podem ser divididos em três grandes grupos: os lípidos, os glúcidos e as proteínas. Estes componentes são substâncias poliméricas que podem existir na forma particulada, coloidal ou solúvel. Por serem compostos de grandes dimensões não conseguem atravessar as paredes celulares para serem degradados (Nadais, 2001). É necessário portanto, que existam no meio reaccional as denominadas bactérias hidrolíticas (anaeróbias facultativas ou anaeróbias estritas) responsáveis pela segregação de enzimas extracelulares que quebram as cadeias

poliméricas, sem redução do CQO (Mohan *et al*, 2005). Os monómeros resultantes da hidrólise dos lípidos, dos glúcidos e das proteínas são os ácidos gordos de cadeia longa (AGCL), os açúcares e os aminoácidos, respectivamente.

Os **lípidos** constituem um grande grupo de compostos químicos que têm em comum o facto de serem insolúveis em água, apresentando uma massa específica inferior, o que faz com que flutuem à superfície de uma solução aquosa (Nelson e Cox, 2004; Quintas *et al*, 2008). Podem ser divididos em três grandes grupos: os ácidos gordos, os lípidos simples e os lípidos complexos. Os ácidos gordos fazem parte da estrutura das células, são uma fonte de energia e possuem uma cadeia linear saturada ou insaturada. Os lípidos simples não contêm ácidos gordos e são divididos em três grupos: os terpenos, os esteróides e os icosanóides. Os lípidos complexos contêm sempre ácidos gordos na sua composição e incluem os acilglicéridos, os fosfoglicéridos, os esfingolípidos e as ceras. Os acilglicéridos são lípidos de reserva de ácidos gordos e encontram-se nas células do tecido adiposo. Formam-se quando se substituem um, dois ou os três grupos hidroxilo da molécula de glicerol por uma, duas ou três moléculas de ácidos gordos formando um monoglicérido, um diglicérido ou um triglicérido, respectivamente. Este último é o principal constituinte das gorduras alimentares (Quintas *et al*, 2008).

Os lípidos são um dos maiores componentes da matéria orgânica presente nos efluentes (Pereira *et al*, 2002) e aparecem naturalmente nos tecidos animais e vegetais. Os lípidos são geralmente facilmente hidrolisados a AGCL e a glicerol na primeira etapa do processo de digestão anaeróbia, e são sempre encontrados na degradação anaeróbia de efluentes da indústria de lacticínios. O glicerol é reconhecido como sendo um produto não inibitório, enquanto que os AGCL são geralmente apontados como inibidores da metanogénese (Demirel *et al*, 2005; Petruy e Lettinga, 1997).

Os **glúcidos** são moléculas poliméricas que contêm numerosos monómeros de açúcares mais pequenos, habitualmente designados por monossacáridos. Os glúcidos dividem-se em três grandes grupos: os monossacáridos, os oligossacáridos e os polissacáridos. Os monossacáridos são as unidades mais simples não podendo, em condições aquosas, ser hidrolisados a compostos mais simples. O mais abundante na natureza é a D-Glucose, com

6 átomos de carbono. Os oligossacáridos formam-se quando se unem monossacáridos em cadeias pequenas. Os mais abundantes são os dissacáridos, com duas unidades ligadas entre si, sendo o mais típico a sucrose. Os polissacáridos são constituídos por 20 ou mais unidades de monossacáridos, sendo a celulose um exemplo com uma cadeia linear (Nelson e Cox, 2004).

Enquanto os monossacáridos são facilmente transportados através das paredes celulares, os dissacáridos e os polissacáridos não são, tendo de ser hidrolisados previamente à incorporação nas células.

As **proteínas** são as macromoléculas biológicas mais abundantes (Nelson e Cox, 2004, Quintas *et al*, 2008) formadas por ligações covalentes (ligações peptídicas) entre os aminoácidos, formando as cadeias polipeptídicas. São conhecidos actualmente centenas de aminoácidos, mas apenas um grupo de 20 é parte constituinte das proteínas. São regularmente referidas como globulares, quando as cadeias polipeptídicas estão dobradas formando estruturas esféricas ou globulares (por exemplo, a mioglobina), ou fibrosas, quando as cadeias estão distendidas formando longas correntes (por exemplo, o colagénio). As primeiras são solúveis em água enquanto as segundas são insolúveis (Thomas, 2003).

No caso das proteínas, é conhecido que a sua hidrólise é a etapa limitante do processo de digestão anaeróbia, uma vez que a transformação dos aminoácidos é rápida (Pavlostathis e Giraldo-Gomez, 1991).

No geral, quando se estão a tratar efluentes complexos e particulados a etapa considerada limitante é a hidrólise ou solubilização. Pelo contrário, no caso de efluentes solúveis geralmente a etapa limitante é a metanogénese. No primeiro caso os substratos insolúveis devem ser mantidos no reactor durante mais tempo para que possa ocorrer o processo de hidrólise e solubilização (Haridas *et al*, 2005).

ACIDOGÉNESE

Esta etapa consiste na incorporação dos produtos da etapa anterior no interior das células bacterianas, e posterior transformação através de reacções de fermentação (no caso dos aminoácidos e açúcares) e oxidação anaeróbia (no caso dos

AGCL) (Demirel e Scherer, 2008). A transformação dos AGCL ocorre mediante uma reacção de β -oxidação onde ocorrem sucessivas remoções de moléculas de ácido acético (HAc) das cadeias dos ácidos gordos (Rinzema *et al*, 1994).

Como produtos destas reacções é comum formarem-se AOV de baixo peso molecular, como o ácido acético (HAc), propiónico (HProp) e butírico (HBut) (Solera *et al*, 2002), e outros compostos como álcoois, CO₂, H₂ e amoníaco. Por exemplo, no caso da oxidação dos AGCL, os ácidos que se formam em maior número são o HAc ou o conjunto HAc + HProp. A distribuição destes produtos depende da composição dos AGCL de partida: se forem constituídos por um número par de átomos de carbono (C) forma-se HAc, mas se forem constituídos por um número ímpar de átomos de C formam-se HAc + HProp. Por outro lado, no caso da fermentação dos açúcares, e na ausência de metanogénicas, os produtos predominantes são o etanol, HAc, H₂ e CO₂. Na presença de metanogénicas utilizadoras de H₂ ocorre uma diminuição da quantidade de etanol formada e um aumento da produção de HAc (Pavlostathis e Giraldo-Gomez, 1991).

As bactérias acidogénicas requerem um pH entre 5,2 e 6,5 para o seu funcionamento óptimo e apresentam um crescimento específico sensivelmente de 2 dias (Solera *et al*, 2002).

Alguns produtos da acidogénese, como o HAc e o H₂, podem ser utilizados pelas metanogénicas. Mas para outros compostos, como o HBut e HProp, isto já não acontece, tendo de ser degradados primeiramente a HAc e H₂, antes de serem metabolizados pelas metanogénicas.

ACETOGENÉSE Esta etapa consiste na oxidação dos produtos intermediários produzidos na acidogénese, para formação dos substratos necessários na metanogénese. É realizada por um conjunto de bactérias anaeróbias produtoras obrigatórias de H₂ e é assim designada pelo facto de o acetato ser o produto maioritariamente formado (Pavlostathis e Giraldo-Gomez, 1991).

A acetogénese é fortemente influenciada pela pressão parcial do H₂ (pH₂). Esta pressão determina a distribuição dos produtos finais desta etapa: se a pH₂ for baixa, as bactérias

acetogénicas convertem o HProp e o HBut a HAc. Por outro lado, se a pH_2 for alta as bactérias acetogénicas poderão sofrer inibição. É fácil compreender portanto, que tenha de haver um mecanismo que provoque a diminuição da pH_2 . Para que isto aconteça é obrigatório que as bactérias acetogénicas que produzem H_2 cresçam em associação sintrófica com as metanogénicas consumidoras de H_2 como as hidrogenofílicas, as sulfato-redutoras e/ou as bactérias homoacetogénicas (ver Figura 2-1). Estas relações podem ser facilmente entendidas se analisarmos a Tabela 2-1:

Tabela 2-1 Valores de ΔG para algumas das reacções acetogénicas e metanogénicas mais relevantes. Baseada em O'Flaherty *et al* (2006) e van Lier *et al* (1993).

Reacção	ΔG^0 , 25°C (kJ/mol)	ΔG^0 , 55°C (kJ/mol)
$HCO_3^- + H^+ + 4H_2 \rightarrow CH_4 + 3H_2O$	-135,6	-122,5
$CH_3COO^- + H_2O \rightarrow HCO_3^- + CH_4$	-31,0	-34,7
$CH_3CH_2COO^- + 3H_2O \rightarrow CH_3COO^- + HCO_3^- + H^+ + 3H_2$	+76,1	+62,3
$CH_3CH_2CH_2COO^- + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COO^- + H^+ + 2H_2$	+48,1	+37,9

O que a Tabela 2-1 traduz é que, por razões termodinâmicas, a oxidação do HProp e HBut só acontece quando a pH_2 é muito baixa, como já havia sido referido. Metcalf & Eddy (2003) e McCarty e Mosey (1991) referem que a oxidação do HProp só será favorável quando a $pH_2 < 10^{-4}$ atm (nesse caso, $\Delta G^0 = -25,6$ kJ/mol (O'Flaherty *et al*, 2006)).

É interessante verificar que, para temperaturas mais elevadas, a termodinâmica da acetogénese é mais favorável. De facto, a digestão anaeróbia termofílica, comparada com a digestão mesofílica, apresenta algumas vantagens cinéticas bastante atractivas: as taxas de crescimento e de utilização de substrato são superiores mas a taxa de decaimento é também superior (cerca de duas vezes), o que pode fazer baixar a produção de novas células por unidade de substrato (Kim *et al*, 2002).

As bactérias acetogénicas crescem muito devagar, têm um tempo de duplicação de 3,6 dias e necessitam de um meio reaccional com pH entre 6 e 7 (Solera *et al*, 2002).

METANOGENÉSE

A metanogénese é a última etapa da digestão anaeróbia e consiste na transformação dos produtos da acetogénese, na grande maioria, em CH_4 e CO_2 . Os microrganismos que desenvolvem esta etapa são anaeróbios estritos, pertencem ao domínio *Archaea*¹ (organismos evolutivamente distintos das bactérias – domínio *Bacteria*) e dividem-se em dois grupos (Demirel e Scherer, 2008; O'Flaherty *et al*, 2006; Templer *et al*, 2006), de acordo com o seu substrato específico:

- Metanogénicas hidrogenofílicas, que produzem CH_4 reduzindo o H_2 e o CO_2 .
- Metanogénicas acetoclásticas, que produzem CH_4 por descarboxilação do acetato.

Solera *et al* (2002) referem que o pH óptimo de funcionamento é entre 7,5 e 8,5. Demirel e Scherer (2008) referem um intervalo entre 6,6 e 7,3 e Mohan *et al* (2007) referem um intervalo entre 6,0 e 7,5. As metanogénicas têm uma taxa de crescimento e uma taxa de utilização de substrato muito baixas, e são muito sensíveis a condições externas, como o pH, a temperatura e a presença de certas substâncias químicas (Hori *et al*, 2006). Por estes motivos, esta etapa é normalmente considerada a etapa limitante de todo o processo de digestão anaeróbia. Num reactor anaeróbio 70% do CH_4 produzido provém do HAc e 30% do H_2/CO_2 (McCarty, 1964; O'Flaherty *et al*, 2006; Pavlostathis e Giraldo-Gomez, 1991; Solera *et al*, 2002). Assim, se por um lado a metanogénese é a etapa mais “desejada” de todo o processo de digestão anaeróbia (excepto em reactores acidogénicos), as etapas anteriores são de importância indiscutível pois são as responsáveis pela formação dos precursores do metano.

É de salientar a importância das metanogénicas hidrogenofílicas pois são as grandes responsáveis pela diminuição da pH_2 , que é muito importante na oxidação de alguns AOV e na formação dos precursores directos do metano.

No caso de co-existirem no meio reaccional as bactérias sulfato-redutoras forma-se também o sulfureto de hidrogénio ou gás sulfídrico (H_2S). O'Flaherty *et al* (2006) referem que é comum encontrarem-se bactérias sulfato-redutoras em reactores anaeróbios, mesmo

¹ São microrganismos vulgarmente designados por arqueobactérias (Itoh, 2003).

quando o efluente é pobre em sulfatos. Estas bactérias competem com outros grupos pois têm a capacidade de utilizar vários substratos. Se por um lado elas também provocam uma diminuição da pressão do H_2 , por outro lado levam à formação de H_2S (fazendo baixar a produção de CH_4), o que provoca maus odores e corrosão, para além de poderem provocar a inibição de vários grupos de microrganismos.

2.1.1 A microbiologia da digestão anaeróbia

Os estudos acerca das comunidades microbianas envolvidas no processo de digestão anaeróbia apresentaram, ao longo de muitos anos, muitas limitações, principalmente devido aos métodos tradicionais de análise baseados na cultura de microrganismos. Actualmente, têm sido desenvolvidas algumas técnicas alternativas que não são baseadas na cultura e desenvolvimento microbiológico. A clonagem e a criação de uma biblioteca genética, e a aplicação das técnicas DGGE (denaturant gradient gel electrophoresis) e FISH (fluorescent in situ hybridization) são algumas das mais utilizadas. Estas técnicas têm implicações directas no processo de digestão anaeróbia pois podem dar informações sobre as concentrações óptimas de nutrientes e sobre o efeito de flutuações de temperatura na performance dos reactores (O'Flaherty *et al*, 2006).

Os microrganismos presentes em reactores anaeróbios pertencem a três domínios: *Bacteria*, *Archaea* e *Eucarya*. Os primeiros são os mais abundantes, enquanto os *Archaea* estão presentes em pequenas quantidades e os *Eucarya* estão presentes em quantidades ainda mais pequenas (na maioria dos casos abaixo de 1%) (Montero *et al*, 2008).

A digestão anaeróbia mesofílica e termofílica são caracterizadas por intervalos de temperatura de funcionamento óptimos, fora dos quais pode ocorrer a morte imediata de grupos de microrganismos. Chen (1983), em Boušková *et al* (2005) mostrou que apenas 9% de microrganismos termofílicos e 1% de termofílicos obrigatórios estão presentes em lamas mesofílicas. Torna-se assim fácil perceber que a adaptação de uma biomassa mesofílica a temperaturas termofílicas poderá requerer longos períodos de tempo.

A comparação entre a diversidade microbiana presente em diferentes reactores anaeróbios revela que existem 3 factores que apresentam um forte impacto no desenvolvimento das comunidades: o tipo de reactor, as condições de operação e a composição do substrato. Geralmente, um substrato complexo permite o desenvolvimento de uma comunidade com uma diversidade metabólica maior quando comparada com substratos compostos por constituintes em número reduzido. Para além disto, a composição das comunidades é fortemente influenciada pela temperatura, que afecta, não só o crescimento, mas também a sobrevivência dos microrganismos no sistema (Levén *et al*, 2007).

Levén *et al* (2007), no seu estudo sobre as diferenças entre as comunidades microbianas a 37°C e 55°C, concluiu que a temperatura tem um forte impacto no desenvolvimento dos microrganismos: as análises das comunidades de bactérias e arqueobactérias revelaram grandes diferenças no que diz respeito aos grupos dominantes e à distribuição filogenética, tendo concluído que, quanto mais baixa for a temperatura de operação, mais elevada é a diversidade microbiológica. Apesar disto, ambos os reactores apresentaram performances semelhantes, apenas com diferenças na degradação de alguns compostos orgânicos específicos. Esta menor diversidade das comunidades microbianas termofílicas havia já sido também mostrada nos reactores aeróbios.

Os estudos mais recentes nesta área parecem demonstrar que existe uma ligação directa entre as condições de operação e os parâmetros físico-químicos com a dinâmica das populações microbianas. Montero *et al* (2008) demonstraram que a abundância de *Archaea* está directamente relacionada com a carga orgânica aplicada (Cv), a remoção de sólidos voláteis (SV) e a produção de metano. Por seu lado, Hori *et al* (2006) demonstraram que a comunidade de *Archaea* está relacionada com a concentração de AOV e a população de bactérias é influenciada pelo pH. No primeiro caso, a comunidade era constituída principalmente por duas espécies de metanogénicas hidrogenofílicas e uma espécie de metanogénicas acetoclásticas.

2.1.2 Processo mesofílico vs processo termofílico

Como foi referido anteriormente, a digestão anaeróbia termofílica foi, durante muitos anos, caracterizada como um processo instável e causador de vários problemas. No entanto, sabe-se hoje que é uma alternativa atractiva, principalmente no tratamento de efluentes com teores médios a elevados de matéria orgânica quando são produzidos a temperaturas elevadas.

A Tabela 2-2 apresenta um resumo das vantagens e desvantagens da utilização da digestão anaeróbia termofílica, apontadas por diversos autores (Boušková *et al*, 2005; Kim *et al*, 2002; Montero *et al*, 2008; van Lier *et al*, 1994):

Tabela 2-2 Vantagens e desvantagens da digestão anaeróbia termofílica, em comparação com a mesofílica.

Vantagens	Desvantagens
<ul style="list-style-type: none"> - Elevada destruição de microrganismos patogénicos - Favorecimento da hidrólise de substratos complexos e da destruição de sólidos orgânicos - Redução da formação de espumas - Produção específica de biogás mais elevada, principalmente devido ao facto de a taxa de crescimento específica máxima ser superior (2-3 vezes) - Favorecimento da separação sólido - líquido - Teor inferior de sólidos voláteis na corrente de saída 	<ul style="list-style-type: none"> - Elevada sensibilidade a flutuações de temperatura - É mais afectada pelos efeitos inibitórios do amoníaco resultante da mineralização das proteínas - Requer mais energia para aquecimento - A biomassa termofílica é mais sensível à acumulação de alguns produtos intermediários (H₂, HAc, HProp) - Fraca qualidade do sobrenadante

Como a produção de biogás é superior nos reactores termofílicos, estes podem ter tamanhos inferiores aos reactores mesofílicos, resultando num investimento inferior. Por esta razão, muitas estações de tratamento estão a considerar alterar os reactores mesofílicos para termofílicos (Boušková *et al*, 2005).

Na Tabela 2-3 é apresentado um resumo de alguns dos estudos mais recentes que foram realizados de forma a comparar a performance de reactores termofílicos com a de reactores mesofílicos.

Tabela 2-3 Resumo de alguns dos mais recentes estudos que servem de comparação entre a digestão anaeróbia mesofílica e termofílica.

Tipo de reaktor	Substrato	TRH	Carga aplicada	Autor
Continuamente agitado	Resíduos da indústria cervejeira	50 - 10 d	0,8 - 4,0 gSV/L/d	Bocher <i>et al</i> , 2008
Completamente misturado	Lamas primárias + secundárias (ETAR municipal)	35 - 8 d	----	El-Hadj <i>et al</i> , 2007
Filtro anaeróbio de fluxo ascendente	Águas ruças + efluente de matadouro	13,66 - 3,33 d	3 - 12 gCQO/L/d	Gannoun <i>et al</i> , 2007
Diversos	Comida para cães	20 d	4 % sólidos	Kim <i>et al</i> , 2002
UASB	Efluente da indústria de café	48 - 18 h	5 - 13,3 gCQO/L/d	Dinsdale <i>et al</i> , 1997

Bocher et al (2008) utilizaram reactores continuamente agitados e a operar a 35°C e a 55°C, sem adição de nutrientes, no tratamento dos sólidos presentes no efluente tratado de um digestor anaeróbio de alta carga, que trata o efluente de uma indústria cervejeira. Estes sólidos são constituídos essencialmente por microrganismos resultantes da fermentação do álcool e partículas hemicelulósicas, assim como bactérias e microrganismos metanogénicos provenientes do tratamento anaeróbio do efluente do processo (biomassa em excesso).

Estes autores puderam verificar que o reactor termofílico apresentou uma maior vulnerabilidade, quando comparado com o reactor mesofílico, apresentando um maior número de períodos de instabilidade. No reactor mesofílico, a produção de metano foi de 0,21 LCH₄/gSV alimentados e 0,48 LCH₄/gSV removidos, enquanto no reactor termofílico os valores foram de 0,21 LCH₄/gSV alimentados e 0,27 LCH₄/gSV removidos. Estes resultados permitem concluir que o reactor termofílico não apresentou uma performance superior no tratamento dos sólidos presentes no sobrenadante de um digestor anaeróbio de alta carga.

El-Hadj *et al* (2007) utilizaram dois 2 reactores completamente misturados inoculados com lamas activadas de uma ETAR municipal. O substrato era constituído por uma mistura de lamas primárias (75% em ST) e secundárias (25% em ST) de uma ETAR municipal. Ambos os reactores foram inicialmente alimentados com acetato para “activar” a biomassa. Assim que se detectou actividade, o acetato foi substituído por glucose para incitar a proliferação de outros microrganismos. Após este período, a glucose começou a ser substituída, por incrementos graduais, pela mistura de lamas.

Estes resultados permitiram verificar que o reactor termofílico pode ser alimentado com uma concentração de substrato superior, em relação ao reactor mesofílico, sendo de 5,425 gCQO/L para o acetato e 4,800 gCQO/L para a glucose, enquanto para o reactor mesofílico a concentração foi de 2,187 gCQO/L para ambos os substratos. Quando a glucose foi totalmente substituída pela mistura de lamas verificou-se uma produção de biogás de 480 mLbiogás/gCQO_t com 65% de CH₄, para o reactor mesofílico, e 525 mLbiogás/gCQO_t com 72% de CH₄, para o reactor termofílico.

A utilização destes reactores na degradação deste tipo de substrato proporciona boas eficiências de remoção, tanto para o reactor mesofílico como termofílico. No entanto, para um TRH de 18 d, o tratamento é claramente favorecido em condições termofílicas, em termos de produção específica de biogás.

Gannoun *et al* (2007) realizaram estudos do comportamento de um filtro anaeróbio de fluxo ascendente no tratamento de uma mistura de águas ruças e de efluentes de matadouros (40:60 (v/v)). Esta mistura foi pensada porque as águas ruças possuem um elevado teor em compostos fenólicos e aromáticos, que são resistentes à biodegradação, e são deficientes em azoto (N), enquanto os efluentes de matadouros possuem um elevado teor em compostos orgânicos biodegradáveis, como gorduras e proteínas, e uma concentração adequada de N e micronutrientes para o crescimento de novas células.

Os resultados obtidos por estes autores permitiram concluir que o reactor termofílico pode ser alimentado com uma carga orgânica superior, tendo permanecido estável até à $C_v = 12$ gCQO/L/d (TRH = 3,33 d). Pelo contrário, o reactor mesofílico sofreu uma sobrecarga

quando foi alimentado com uma $C_v = 9 \text{ gCQO/L/d}$ ($\text{TRH} = 4,5 \text{ d}$). A taxa de produção de biogás foi também mais elevada no reactor termofílico com um máximo de 4 L/L/d com um $\text{TRH} = 4 \text{ d}$.

A descoloração do efluente tratado devida à remoção de compostos fenólicos, foi também favorecida na gama termofílica e nas cargas aplicadas mais elevadas, provavelmente devido à capacidade que os microrganismos termofílicos possuem de utilizar mais fontes de carbono, em comparação com os microrganismos mesofílicos e psicofílicos.

Kim *et al* (2002) utilizaram diversos reactores com o objectivo de estudar a estabilidade e a eficiência da digestão anaeróbia nas gamas de temperatura mesofílica e termofílica, avaliando parâmetros como a configuração do reactor, a proximidade entre os diversos consórcios de microrganismos e a adição de nutrientes. Os reactores utilizados foram: CSTR de uma fase alimentado diariamente; CSTR de uma fase alimentado continuamente; CSTR de duas fases alimentado diariamente; e um reactor não agitado alimentado diariamente. O substrato utilizado foi uma simulação de lamas municipais primárias, neste caso, comida para cães, que contém proteínas, gorduras, fibras, micro e macronutrientes e um conteúdo em SV de 90% dos ST.

Estes autores concluíram que, para ambas as temperaturas, os reactores não agitados apresentaram um melhor desempenho em relação aos reactores agitados, podendo dever-se ao facto de nos reactores não agitados os diversos consórcios de microrganismos estarem mais próximos.

Para além disso, verificou-se que todos os reactores termofílicos, excepto os de duas fases, mostraram uma acumulação de HAc. Isto pode indicar que os microrganismos metanogénicos de crescimento lento, em reactores de uma só fase, são mais afectados pela elevada temperatura, provavelmente devido ao desequilíbrio entre os microrganismos acidogénicos e metanogénicos. A operação de reactores de duas fases não se mostrou benéfica. Mesmo assim, o reactor termofílico mostrou um melhor desempenho do que o mesofílico, durante as fases de arranque e de operação a longo prazo.

Dinsdale *et al* (1997) operaram dois reactores UASB: um mesofílico e um termofílico, inoculados com grânulos mesofílicos de uma estação anaeróbia piloto, utilizando como substrato um efluente real de uma indústria de café. Os resultados obtidos permitiram demonstrar que o reactor termofílico é capaz de tratar o efluente até C_v ligeiramente superiores, em comparação com o reactor mesofílico (11,4 kgCQO/m³/d, em vez dos 10 kgCQO/m³/d, respectivamente). No primeiro caso a eficiência de remoção foi um pouco inferior (68%, em vez de 77%) e a produção de metano por CQO removido foi praticamente igual. Em ambos os reactores se verificou uma acumulação de AOV (principalmente HProp) nos primeiros dias de operação, embora no reactor termofílico tenha sido mais pronunciada. Este facto foi explicado pela adaptação da biomassa mesofílica a temperaturas termofílicas.

2.2 A tecnologia SBR anaeróbia

Os reactores ASBR são uma tecnologia muito promissora. A sua operação consiste numa repetição de ciclos constituídos por 4 etapas dentro do mesmo reactor, onde se encontra a biomassa anaeróbia. O efluente é adicionado ao reactor, o que aumenta o nível de lâmina líquida, e o processo de digestão anaeróbia inicia-se com a agitação. Quando a produção de biogás é reduzida, a agitação é desligada e a biomassa sedimenta dentro do reactor. Após esta etapa, é extraído o efluente tratado, em igual volume ao efluente alimentado. Nesta etapa, o nível de líquido diminui. No fim desta fase é repetida a alimentação do efluente, aumentando novamente o nível de líquido dentro do reactor, e recomeça um novo ciclo. A Figura 2-2 apresenta um esquema do funcionamento de um reactor ASBR:

Este regime intermitente de alimentação e extracção resulta numa alternância entre dois períodos, sendo um de elevada e outro de baixa concentração de substrato dentro do reactor, respectivamente. A elevada concentração de substrato imediatamente após a alimentação (F/M elevado) resulta em elevadas taxas de conversão de substrato e de produção de biogás. A baixa concentração de substrato imediatamente antes da extracção do efluente tratado (F/M baixo) resulta numa baixa produção de biogás, favorecendo a separação sólido/líquido. O período de baixo F/M é ainda caracterizado por baixos níveis de compostos intermediários, o que promove o desenvolvimento de microrganismos

metanogénicos que crescem a baixas concentrações de AOV, sendo possível obter um efluente tratado com concentrações muito baixas de AOV (Sung e Dague, 1995).

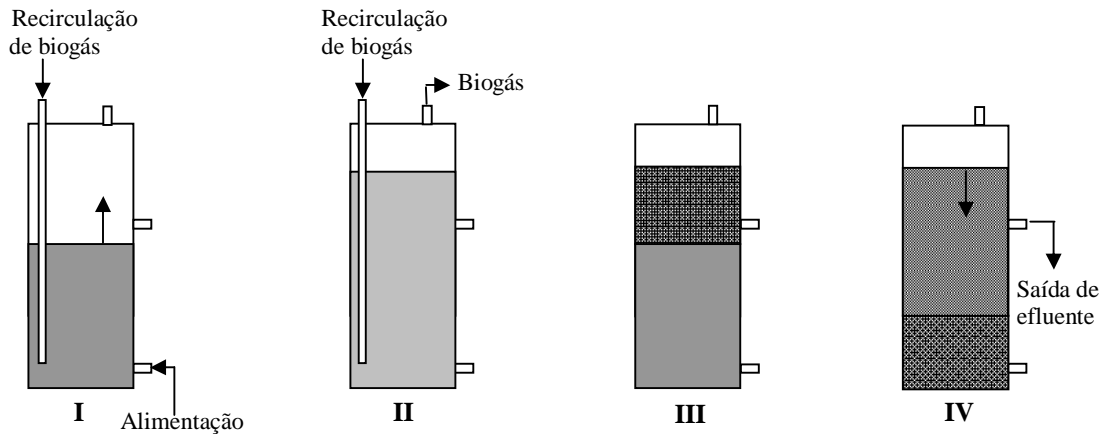


Figura 2-2 Representação esquemática do funcionamento de um reactor ASBR. I - Fase de alimentação; II - Fase de reacção; III - Fase de sedimentação; IV - Fase de extracção do efluente tratado.

A fase de reacção é a mais importante na conversão do substrato a biogás. O tempo requerido para esta fase depende de vários parâmetros, como a composição e a concentração da alimentação, os valores limite de emissão para o efluente tratado, a concentração de biomassa dentro do reactor e a temperatura. Nesta fase, é muito importante que se mantenha a agitação da mistura reaccional, quer seja apenas através da recirculação de biogás, ou através de um sistema mecânico. É igualmente importante que a agitação não seja muito vigorosa ao ponto de favorecer a destruição dos flocos anaeróbios, o que resultará numa separação sólido/líquido deficiente. Na verdade, muitos estudos indicam que uma agitação intermitente pode favorecer a performance do reactor (Angenent e Dague, 1995).

Neste tipo de reactor, a frequência com que se inicia um novo ciclo e o volume alimentado determinam o TRH, e a concentração da alimentação determina a Cv. A concentração de biomassa é também uma variável importante, dado afectar a velocidade de sedimentação e a qualidade do efluente tratado (Dague *et al*, 1992).

Os reactores anaeróbios descontínuos apresentam algumas vantagens em relação a outro tipo de reactores com funcionamento hidráulico diferente (Zaiat *et al*, 2001):

- Não ocorrem curto-circuitos, como no caso dos sistemas contínuos de filme-fixos;
- Maior facilidade no controlo da qualidade do efluente, uma vez que a extracção do efluente tratado pode ser realizada apenas quando se atinja o limite de emissão desejado;
- A inexistência de um sedimentador secundário;
- A inexistência de recirculação de líquido ou sólidos;
- Elevada remoção de matéria orgânica;
- Operação simples e estável.

Uma outra vantagem destes reactores é o facto de a flotação da biomassa por libertação do CO₂ ser bastante minimizada, aquando da extracção do efluente. Isto acontece porque a pressão parcial do biogás permanece constante dentro do reactor, ao contrário da grande redução que acontece quando o efluente é separado dos sólidos à pressão atmosférica (Dague *et al*, 1992).

Zaiat *et al* (2001) também referem algumas desvantagens, como a ocorrência de zonas mortas, a necessidade de tempos de sedimentação elevados, o “washout” de sólidos, uma fase de arranque demorada e a ocorrência de inibição por sobrecarga orgânica. Este autor fez um levantamento dos vários substratos utilizados em estudos com reactores ASBR, durante a década de 90. Até então, tinham sido utilizados substratos bastante diversos, desde efluentes sintéticos à base de leite magro, sucrose, glucose e AGCL, lixiviados de aterros sanitários e resíduos de suiniculturas e de indústrias de lacticínios. A partir dessa data, muitos destes substratos continuaram a ser estudados, nomeadamente os efluentes da indústria de lacticínios, incluindo o soro, os resíduos de suiniculturas e a glucose. Por outro lado, assistiu-se nos últimos anos ao estudo de outros substratos algo diferentes, como derivados do etanol, amido, efluentes resultantes da produção de coque, cerveja, águas ruças e efluentes de matadouros.

Na Tabela 2-4 são apresentados os resultados mais importantes dos estudos realizados nos últimos anos, utilizando reactores ASBR.

Tabela 2-4 Resultados obtidos nos estudos mais recentes utilizando reactores ASBR e diversos tipos de efluentes.

Efluente	Tempo ciclo (h)	T (°C)	%R _{CQO}	%CH ₄	Autor
Derivados do etanol	24	35	62-96	57-71	Cassidy <i>et al</i> , 2008
Glucose	24 / 12 / 6	35	até 95	39-85,6	Cheong e Hansen, 2008
Soro Soro fermentado	---	50	68-100 80-100	39-61 54-70	Göblös <i>et al</i> , 2008
Resíduos de suinicultura	24 / 8	20 / 35	73-88	---	Ndegwa <i>et al</i> , 2008
Soro	8	35	90	---	Mockaitis <i>et al</i> , 2006
Águas ruças	---	30	53-83	---	Ammary, 2005
Produção de coque	24	35	39,6-50,3	---	Bing <i>et al</i> , 2005
Cerveja (5% álcool)	6	23 35	95-57 93-70	---	Li e Mulligan, 2005
Fezes humanas	24 48	35	67,4 65,5	72,4 72,1	Lee <i>et al</i> , 2001
Lacticínios sintético	12	35	90-99	---	Ruiz <i>et al</i> , 2001
Matadouros	---	30 / 25 / 20	92	74,7-78,2	Massé e Masse, 2001
Lixiviados de aterros sanitários	24	---	92-94	47,7-74,8	Timur <i>et al</i> , 2000

A análise desta tabela e dos resultados de Zaiat *et al* (2001) permite verificar que, na grande maioria dos estudos realizados, os reactores são operados com ciclos que duram no máximo 24 h, tendo sido estudados poucos casos com durações superiores, mas muitos casos com durações inferiores. A diminuição da duração total de cada ciclo parece provocar uma diminuição da eficiência de remoção de CQO. Por exemplo, Ndegwa *et al* (2008) demonstraram que, quando se aumenta o n.º de ciclos realizados por dia (frequência) diminui a eficiência, porque diminui o n.º efectivo de horas de reacção, por aumento do n.º de horas de sedimentação. Segundo o autor, a sedimentação é claramente prejudicada pelo

aumento do n.º de ciclos por dia, para um determinado TRH e temperatura. Este efeito prejudicial é ainda mais notado a temperaturas mais elevadas. O aumento da temperatura não provoca grandes efeitos na produção de biogás, mas o aumento da frequência de realização de ciclos diminui a produção de biogás: uma fase de reacção mais longa é preferível a três mais curtas.

No mesmo estudo, Ndegwa *et al* (2008) demonstraram que o aumento de temperatura diminui a degradação de AOV, mas o aumento do n.º de ciclos não provoca mudanças significativas. Como uma maior degradação de AOV promove um efluente com odores menos intensos, estes resultados sugerem que a utilização de reactores ASBR no tratamento de resíduos de suiniculturas para o controlo de odores é mais favorável a temperaturas mais baixas.

Cheong e Hansen (2008) e Lee *et al* (2001) estudaram a degradação anaeróbia em reactores ASBR fazendo variar as razões tempo de alimentação/tempo de ciclo ($t_{\text{alimentação}}/t_{\text{ciclo}}$) e tempo de reacção/tempo de sedimentação ($t_{\text{reacção}}/t_{\text{sedimentação}}$). Para além de diferentes razões $t_{\text{alimentação}}/t_{\text{ciclo}}$ estudadas, Cheong e Hansen (2008) pretenderam ainda comparar estes resultados com os resultados obtidos em reactores tipo *batch*, nos quais a alimentação foi efectuada em tempos muito pequenos (0,25 h), comparados com os primeiros, onde os tempos variaram entre 5,00 h e 4,75 h.

Cheong e Hansen (2008) puderam demonstrar que os reactores tipo *batch* são os que promovem uma eficiência de remoção de CQO e uma produção de CH₄ mais baixas, e que esta diferença é tanto maior quanto maior for a Cv aplicada. Os reactores que apresentam melhor desempenho são aqueles operados com razões $t_{\text{alimentação}}/t_{\text{ciclo}} \geq 0,42$. Nestes reactores verifica-se igualmente um aumento da produção específica de metano (g CH₄-CQO/g SSV/d) com o aumento da Cv, com produção de um efluente com teor em AOV inferior aos reactores tipo *batch*. Quando a razão $t_{\text{alimentação}}/t_{\text{ciclo}}$ é mais elevada, verifica-se menor acumulação de AOV, nomeadamente de HProp, mostrando que a mudança de estratégia de alimentação para tempos mais prolongados é benéfica, ajudando a resolver o problema de sobrecarga, sendo possível aplicar Cv mais elevadas, comparando com um sistema *batch* comum.

Por seu lado, Lee *et al* (2001) estudaram o efeito do aumento do tempo de reacção (cerca de 3 vezes), mantendo o tempo de sedimentação inalterado. Puderam verificar que o volume de lamas espessadas no final da fase de sedimentação é superior em ambos os reactores ASBR, quando comparados com o reactor - controlo (reactor CSTR) e que a velocidade de sedimentação é inferior nos reactores ASBR. Entre os dois reactores ASBR, o que apresenta uma velocidade de sedimentação superior é o que foi operado a uma razão $t_{\text{reacção}}/t_{\text{sedimentação}} = 3$. O tempo requerido para a obtenção de um volume de lamas de 50% foi de 12 h para um $t_{\text{reacção}}/t_{\text{sedimentação}} = 3$ e de 16 h para um $t_{\text{reacção}}/t_{\text{sedimentação}} = 1$.

Em termos de eficiência, estes autores concluíram que ambos os reactores ASBR, em comparação com o reactor - controlo, removem mais CQO e sólidos voláteis, produzindo mais biogás por dia e por unidade de volume do reactor, com um teor superior em CH_4 .

O efeito da temperatura (30°C, 25°C e 20°C) no desempenho de reactores ASBR foi estudado por Massé e Masse (2001). Neste estudo concluíram que a remoção de CQO_t foi sempre boa, atingindo mesmo valores de 90%, e que o aumento da temperatura permite aplicar C_v superiores (4,93; 2,94 e 2,75 $\text{kg/m}^3/\text{d}$ para 30°C, 25°C e 20°C, respectivamente). A diminuição da temperatura de 30°C para 25°C não afecta significativamente a produção específica de biogás, mas provoca um aumento do teor de CH_4 , em relação aos outros componentes. É provável que isto aconteça porque a solubilidade do CO_2 e H_2 aumenta com a diminuição da temperatura, aumentando a concentração dos dois gases na fase líquida. Este facto poderá promover um aumento do teor de CH_4 , por duas vias distintas:

- Acção das metanogénicas hidrogenofílicas, que reduzem o CO_2 e produzem CH_4 ;
- Acção das bactérias homoacetogénicas, que produzem acetato, seguida da acção das metanogénicas acetoclásticas, que reduzem o acetato e produzem CH_4 .

2.3 O efluente da indústria de laticínios

Os efluentes da indústria de laticínios são constituídos por leite derramado, leite estragado, leite desnatado, soro e águas de lavagem de embalagens, equipamentos e instalações de produção, incluindo alguns produtos químicos. Destes constituintes, o soro é o subproduto mais concentrado, em termos de matéria orgânica, e de mais difícil tratamento, uma vez que a sua degradação anaeróbia é acompanhada pela diminuição do pH, o que inibe a posterior conversão dos AOV a CH_4 . O soro contém uma elevada quantidade de proteínas do leite, vitaminas solúveis em água e sais minerais (Rajeshwari *et al*, 2000).

Este tipo de efluentes é normalmente produzido de uma forma intermitente, fazendo variar significativamente os caudais. Esta variação está muitas vezes relacionada com a recepção do leite para processamento, que é, tipicamente, elevada no Verão e baixa no Inverno. Para além disso, devido à grande quantidade de produtos que são produzidos a partir do leite (leite para consumo, iogurtes, queijo, gelados), as características dos efluentes produzidos são igualmente muito diferentes. Demirel e Yenigün (2006) apresentam uma tabela com os intervalos entre os quais se situam os valores característicos de alguns parâmetros relativos a este tipo de efluentes, Tabela 2-5.

Uma grande quantidade dos compostos orgânicos presentes neste tipo de efluentes provém directamente do leite e seus derivados. Em instalações industriais, o azoto provém principalmente das proteínas do leite, podendo encontrar-se em diversas formas: como azoto orgânico (proteínas, ureia, ácidos nucleicos) ou sob a forma de iões (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^-). O fósforo encontra-se maioritariamente na forma inorgânica: como ortofosfatos (PO_4^{3-}) e polifosfatos ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$), mas também nas formas orgânicas. Os SS e os sólidos suspensos voláteis (SSV) formam-se na coagulação do leite ou no fabrico do queijo. A elevada concentração de sódio indica a presença de produtos de limpeza alcalinos utilizados nestas indústrias (Demirel *et al*, 2005).

Tabela 2-5 Valores característicos da composição dos efluentes da indústria de laticínios. Adaptado de Demirel e Yenigün (2006).

Parâmetro	Unidades	Concentração
pH	---	5,8-11,4
Sólidos totais	mg/L	2705-3715
Sólidos totais voláteis	mg/L	1196-1804
Sólidos suspensos	mg/L	340-1730
Sólidos suspensos voláteis	mg/L	255-830
CQO _t	mg/L	1155-9185
CQO _s	mg/L	550-5960
Azoto total de Kjeldahl	mg/L	14-272
Fósforo total	mg/L	8-68
Alcalinidade	mg CaCO ₃ /L	316-972
Lípidos	mg/L	7-62
Cloretos	mg/L	233-993
Cálcio	mg/L	12-120
Magnésio	mg/L	2-97
Sódio	mg/L	123-2324
Potássio	mg/L	8-160
Cobre	mg/L	0,01-0,1
Manganês	mg/L	0,03-0,4
Níquel	mg/L	0-0,1
Ferro	mg/L	0,5-7
Zinco	mg/L	0,05-0,4

Como se pode verificar na Tabela 2-5, estes efluentes são mais concentrados do que os efluentes domésticos e a carga orgânica exercida no meio ambiente é devida à presença de três classes de compostos do leite: os glúcidos, dos quais o principal é a lactose; proteínas, das quais a caseína constitui cerca de 80%; e gorduras (Nadais, 2001).

A degradação anaeróbia dos glúcidos, como a lactose, é normalmente rápida e quase completa. Este processo provoca a formação de acetato, propionato, *iso* e *n*-butirato, *iso* e *n*-valerato, caproato, lactato, formato e etanol. A acumulação destes produtos intermediários, especialmente na forma não dissociada, provoca a inibição de muitas espécies microbianas, com a consequente diminuição da produção de CH₄ (Demirel *et al*, 2005; Vidal *et al*, 2000).

Um problema originado pela existência de elevadas concentrações de glúcidos nos efluentes é a elevada produção de biogás, que aumenta a flutuação de lamas biológicas,

também causada pela adsorção de gorduras na superfície da biomassa (Nadais, 2001). De igual modo, e embora a degradação dos glúcidos, só por si, ocorra facilmente, sabe-se que a sua elevada concentração reduz a síntese de enzimas, resultando em baixos índices de degradação de proteínas (Demirel *et al*, 2005; Nadais, 2001).

A caseína é a proteína que está presente em maior quantidade no leite (80% do total de proteínas) e nos efluentes. Segundo Demirel *et al* (2005), quando a caseína é alimentada a reactores anaeróbios com biomassa adaptada, a sua degradação é muito rápida e os produtos são não inibitórios. Por outro lado, vários autores referem que o amoníaco, formado como resultado da degradação das proteínas, pode ser tóxico para os microrganismos metanogénicos. Verificou-se que, quando a concentração de azoto amoniacal está entre 50 - 200 mg/L os microrganismos metanogénicos são estimulados, mas concentrações mais elevadas podem ser tóxicas. Outros estudos referem que, quando a concentração de amoníaco livre está entre 25 - 140 mgN/L, ocorre inibição do processo biológico mesofílico (Vidal *et al*, 2000).

No seu estudo, Nadais (2001) fez um levantamento dos problemas que estão normalmente associados à presença de proteínas nos efluentes: formação de espumas que provocam a acumulação de matéria orgânica (proteínas e gorduras) no interior dos reactores e a formação de lamas flutuantes no topo dos reactores; crescimento de organismos filamentosos que apresentam a tendência para se agregarem, formando uma biomassa volumosa com más características de sedimentabilidade; mineralização das proteínas, o que pode originar níveis tóxicos de amoníaco para as bactérias anaeróbias; produção de aminas quando não são completamente degradadas, o que dá origem a maus odores; precipitação das proteínas, que pode levar à formação de agregados sólidos de matéria orgânica difíceis de degradar.

Os lípidos são pouco biodegradáveis porque não estão prontamente disponíveis (Petry e Lettinga, 1997). Como já foi referido no início deste capítulo (ponto 2.1), durante a degradação anaeróbia os lípidos são inicialmente hidrolisados a glicerol e AGCL, seguida da β -oxidação, produzindo acetato e hidrogénio. O glicerol é reconhecido como sendo um produto não inibitório, enquanto os AGCL são quase sempre referidos como produtos

inibitórios para os microrganismos metanogénicos (Demirel *et al*, 2005). Vidal *et al* (2000) verificaram que a inibição das bactérias acetogénicas e das metanogénicas acetoclásticas causou uma pronunciada fase *lag* em ensaios *batch*, enquanto a inibição das metanogénicas hidrogenofílicas causou uma diminuição da taxa de conversão de H₂.

Os AGCL insaturados parecem provocar um efeito inibitório mais pronunciado do que aqueles que são saturados: produzem uma forte inibição da produção de metano a partir do HAc e uma moderada inibição da β -oxidação. De modo a prevenir-se o efeito inibitório durante o processo anaeróbio, os AGCL podem ser primeiramente saturados (Demirel *et al*, 2005). De todos os AGCL resultantes da hidrólise dos triglicéridos presentes no leite, o ácido oleico (18:1 - ácido insaturado com 18 átomos de carbono e uma ligação dupla) é o que se encontra em maior quantidade, entre 25 a 40% (Nadais, 2001).

Nas décadas de 80 e 90, os efluentes das indústrias de lacticínios foram extensivamente estudados, tendo sido utilizados os mais diversos tipos de reactores e condições operatórias para o seu tratamento, tendo Demirel *et al* (2005), Omil *et al* (2003) e Rajeshwari *et al* (2000) feito um levantamento destes estudos. Os resultados destes autores permitem concluir que, nos anos 90, o reactor mais utilizado para o tratamento deste tipo de efluentes foi o reactor UASB, tendo sido obtidas remoções de matéria orgânica entre 90% e 99%, seguido dos filtros anaeróbios, embora com eficiências ligeiramente inferiores. Na década anterior, foram utilizados outros tipos de reactores, sendo os reactores UFFLR (upflow fixed film loop reactor), o FBR (fluidized bed reactor) e o SDFA (semicontinuous digester with flocculant addition), aqueles que apresentaram remoções superiores a 90%, para além do já referido UASB. Na década de 90, os reactores ASBR foram igualmente muito utilizados, ainda que nestes três estudos não tenham sido completamente referenciados.

Apesar dos muitos estudos realizados nas décadas de 80 e 90, assiste-se ainda ao estudo intensivo destes efluentes, com algumas especificidades, como o uso de reactores acidogénicos (Mohan *et al*, 2007) ou ainda o estudo da microbiologia anaeróbia com recurso a algumas técnicas específicas de caracterização das populações (Demirel e Yenigün, 2006). Na Tabela 2-6 são apresentados alguns estudos realizados nos últimos anos, utilizando o efluente de lacticínios como substrato.

Tabela 2-6 Apresentação de alguns estudos realizados nos últimos anos, utilizando como substrato um efluente de lacticínios.

Efluente	Reactor	T (°C)	Autor
Real	ASBR acidogénico	28	Mohan <i>et al</i> , 2007
Real / iogurtes	CSTR anaeróbio	35	Demirel e Yenigün, 2006
Leite meio-gordo	UASB	35	Nadais <i>et al</i> , 2005
Leite em pó	Contínuo de fluxo ascendente acidogénico	37	Yu e Fang, 2001
Sintético	Ensaio batch	36	Vidal <i>et al</i> , 2000

Nos seus estudos, Mohan *et al* (2007) estudaram o efeito do aumento da C_v na produção de H_2 durante a degradação anaeróbia de um efluente real da indústria de lacticínios. Utilizaram reactores ASBR acidogénicos a operar com ciclos de 24 h, TRH = 24 h, e aplicaram 3 cargas distintas: 2,4; 3,5 e 4,7 kgCQO/m³/d. Os seus resultados permitiram concluir que o aumento da carga produz não só um aumento da produção de H_2 , mas uma diminuição do tempo necessário para se obter a produção máxima. No caso da C_v mais baixa só ao fim de 16 h se conseguiu a produção máxima (0,061 mmolH₂/min), enquanto que para as outras duas foram necessárias apenas 12 h (0,118 mmolH₂/min e 0,034 mmolH₂/min, respectivamente). A produção de H_2 é acompanhada de remoção de CQO, indicando que estes efluentes servem de fonte primária de carbono nas reacções metabólicas que envolvem a produção de H_2 . No entanto, ficou demonstrado que o aumento da C_v faz baixar a remoção de CQO (64,7%, 60% e 51%, da C_v mais baixa para a mais elevada). Os autores concluíram que a utilização de uma tecnologia de biomassa suspensa e de funcionamento sequencial (periódico) é altamente flexível e promove o enriquecimento do meio com um grupo microbiológico específico.

A acidificação destes efluentes foi também estudada por outros autores. Yu e Fang (2001) avaliaram a degradação de um efluente sintético à base de leite em pó, utilizando ensaios *batch* e reactores contínuos. Nos ensaios contínuos, puderam concluir que o grau de acidificação diminui com o aumento do CQO do efluente a tratar, de 57,1% a 2 gCQO/L para 28,8% a 30 gCQO/L. Entre os constituintes presentes no efluente, 92% a 99% dos glúcidos, 59% a 85% das proteínas e 12% a 42% dos lípidos foram acidificados. Os resultados obtidos nos ensaios *batch* permitiram concluir que a degradação das proteínas

inicia-se apenas quando a concentração de glúcidos começa a diminuir. Os produtos da acidogénese foram AOV (acetato, propionato e butirato), álcoois (etanol, propanol e butanol) e H_2 . A produção do H_2 e dos AOV são resultado da acidificação dos glúcidos, enquanto os álcoois e os AOV de peso molecular mais elevado (mais o *iso*-butirato) são resultado da acidificação das proteínas.

Nadais *et al* (2005) utilizaram reactores UASB metanogénicos inoculados com biomassa floculenta, na degradação de leite meio-gordo. Os seus resultados permitiram concluir que o aumento do TRH promove a remoção de CQO e, principalmente, a produção de CH_4 . Tal como já havia sido referido noutros estudos, estes autores puderam verificar uma inflexão na curva de remoção de CQO e de produção de CH_4 , nas cargas aplicadas entre 3 gCQO/L/d e 6 gCQO/L/d, que representam a carga que promove uma remoção de matéria orgânica mais eficiente. A metanização do CQO (quantidade de CQO removido que é transformado em CH_4) mostrou-se bastante deficiente para as cargas mais elevadas: para um TRH = 6 h a metanização foi constante e baixa (<20%); para um TRH = 8 h a metanização atingiu máximos de 25% até 40% nas cargas mais baixas, mas baixou significativamente para cargas mais elevadas (15%); para TRH = 12 h e TRH = 16 h a metanização foi mais elevada (entre 80% e 85%) para as cargas mais baixas, enquanto nas cargas mais elevadas, estes valores baixaram para 20% a 30%. O facto de estes valores serem baixos indica que, para todos os TRH, ocorre uma significativa acumulação de matéria orgânica no leito de lamas, dado se terem verificado grandes eficiências de remoção de CQO.

Devido às características físico-químicas destes efluentes, existem diversos estudos realizados com o objectivo de avaliar a modificação da concentração de alguns constituintes na remoção de matéria orgânica. Vidal *et al* (2000) estudaram a influência das concentrações absoluta e relativa dos glúcidos, das gorduras e das proteínas na digestão anaeróbia de efluentes da indústria de lacticínios. Para este efeito, realizaram vários ensaios *batch* fazendo variar o CQO total entre 0,4 gCQO/L e 20 gCQO/L, e utilizando dois efluentes sintéticos: um rico em gorduras (Gorduras/Proteínas/Glúcidos: 1,7/0,57/1, em termos de CQO), e outro com um teor de gorduras mais baixo, isto é, mais rico em glúcidos, (Gorduras/Proteínas/Glúcidos: 0,05/0,54/1, em termos de CQO).

Os resultados de Vidal *et al* (2000) permitiram concluir que a degradação do efluente rico em gorduras é mais lenta porque a sua hidrólise é mais lenta, evitando a acumulação de AOV e favorecendo o processo no seu todo: a hidrólise rápida do efluente mais rico em glúcidos promove a inibição das metanogénicas acetoclásticas, devido à presença de concentrações elevadas de AOV. A metanização dos efluentes ricos em gorduras é, provavelmente, controlada pela presença destas: a sua hidrólise lenta facilita e equilibra a etapa da metanogénese, evitando acumulações temporárias de AOV. Pelo contrário, a hidrólise rápida promove a acidificação, podendo significar uma acumulação de AOV. Para as concentrações mais elevadas, pode verificar-se que o efluente rico em gorduras apresentou degradações entre 98% e 99%, enquanto o efluente rico em glúcidos apresentou valores entre 97,5% e 86%.

Vidal *et al* (2000) consideram que a digestão anaeróbia mesofílica é inibida quando a concentração de amoníaco livre se situa entre 30 e 170 mg/L. Os seus resultados permitiram verificar que nos ensaios com o efluente rico em glúcidos produziu-se amoníaco livre em concentrações próximas de níveis considerados inibitórios, 62,2 mg/L, ao contrário do efluente rico em gorduras, cujos ensaios produziram amoníaco livre até ao máximo de 5,4 mg/L. A produção de amoníaco apresenta efeitos antagonistas: se por um lado o amoníaco prejudica o processo por inibição das metanogénicas, por outro lado, controla o pH do meio evitando-se a acumulação de AOV.

Tem-se assistido, nos últimos anos, ao desenvolvimento e à aplicação de diversas técnicas de estudo, identificação e isolamento das diferentes populações microbianas, responsáveis pela degradação anaeróbia. Demirel e Yenigün (2006) focaram os seus trabalhos nas populações microbianas, em termos de alterações do número total de bactérias, de metanogénicas auto-fluorescentes e não-metanogénicas, e da morfologia das metanogénicas auto-fluorescentes, usando técnicas microscópicas e técnicas de enumeração. De uma forma sucinta, puderam verificar que, tal como seria de esperar, a produção de AOV aumentou com o aumento da C_v e com a diminuição do TRH de 24 h para 12 h. Os AOV que se formaram em maior quantidade foram o HAc, HProp, HBut e ácido valérico. A produção de HProp pode ser o resultado da quebra do lactato a propionato. Quanto às populações microbianas, os autores puderam verificar que, tanto as bactérias como as metanogénicas auto-fluorescentes,

diminuíram, em número, durante a fase inicial. A razão entre as metanogénicas auto-fluorescentes e a quantidade total de bactérias variou entre 5% e 16% e, apesar de não ter ocorrido um completo washout das metanogénicas (devido à recirculação), verificou-se uma diminuição da sua actividade, quando se mantém um baixo TRH.

Com o aumento da C_v aplicada é frequente ocorrer uma diminuição da remoção de matéria orgânica. Na maior parte das vezes, isto acontece porque a etapa acidogénica estende-se até à etapa metanogénica, tornando o meio reaccional ácido, resultando, em último caso, na falha do sistema. Neste sentido, é importante considerar um processo em duas-fases para promover a produção de biogás e de metano. Um processo de duas-fases permite a selecção e o enriquecimento de diferentes microrganismos em cada um dos reactores (acidogénico e metanogénico), através do controlo independente das diversas condições operatórias: a primeira fase pode ser operada de forma à optimização do crescimento das bactérias acidogénicas, e a segunda à optimização do crescimento das metanogénicas (Ince, 1998).

3 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

Este capítulo tem como objectivo especificar o procedimento experimental adoptado no decorrer do trabalho experimental. De forma a tornar a sua leitura e interpretação mais fáceis será dividido em quatro grandes partes:

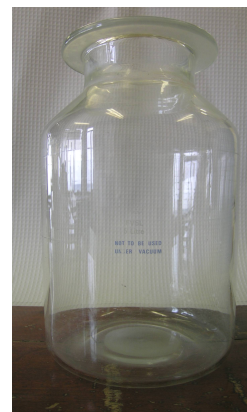
- 3.1** Apresentação e descrição das unidades laboratoriais.
- 3.2** Especificação das condições de operação dos reactores laboratoriais e descrição do plano experimental aplicado a cada reactor.
- 3.3** Caracterização do substrato e dos tipos de inóculo utilizados.
- 3.4** Descrição do plano de monitorização dos reactores e dos métodos analíticos utilizados.

3.1 Unidades laboratoriais

Neste estudo foram operados 5 reactores SBR anaeróbios (não em simultâneo, mas faseadamente) segundo o plano experimental proposto. Os reactores utilizados foram reactores de vidro comerciais constituídos por um corpo cilíndrico, aqui designado por base, com um diâmetro superior à parte designada por topo. As dimensões mais importantes destes reactores estão expressas na Tabela 3-1, e na Figura 3-1 pode ver-se uma fotografia de um dos reactores utilizados.

Tabela 3-1 Dimensões dos reactores.

Volume total, V_{total}	5,7 L
Volume útil, $V_{\text{útil}}$	5,0 L
Altura total, h_{total} (base + topo)	26,5 cm
Altura útil, $h_{\text{útil}}$	19,0 cm
Diâmetro interno base, d_{base}	17,5 cm
Diâmetro interno topo, d_{topo}	$10,0 \leq d_{\text{topo}} < 17,5$ cm

**Figura 3-1** Fotografia de um reactor utilizado.

Cada reactor apresenta uma tampa, também em vidro, com várias aberturas onde foram inseridos os tubos de alimentação e de retirada do efluente tratado, um termómetro para controlo da temperatura no interior do reactor e onde foi ligada a linha de recolha de biogás. O biogás formado durante a operação dos reactores foi medido por deslocamento de água numa ampola de vidro conectada por tubo de silicone, em primeiro lugar a um frasco borbulhador e em seguida ao reactor. Na linha de biogás, à saída do reactor, foi colocado um septo de borracha em T para a realização de amostragens de biogás para posterior análise da sua composição.

A temperatura dos reactores foi mantida a 37°C ou 55°C por circulação de água, em circuito fechado, numa tubagem em silicone enrolada ao corpo cilíndrico do reactor. A água foi aquecida e recirculada na tubagem por acção de um termostato Haake C-10. A agitação da mistura reaccional foi realizada por intermédio de um agitador magnético Bunsen MC-8 e de um magneto colocado dentro do reactor no dia do arranque. A agitação foi suficiente para manter a mistura em suspensão, mas sem se verificar a destruição dos flocos biológicos devido a uma agitação demasiado vigorosa.

Nas Figuras 3-2, 3-3 e 3-4 podem ver-se respectivamente, um esquema do reactor, uma fotografia de toda a montagem experimental e um pormenor da tampa em vidro de cada reactor.

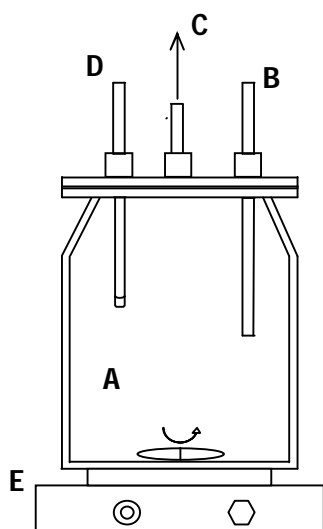


Figura 3-2 Esquema da montagem experimental (não está à escala).

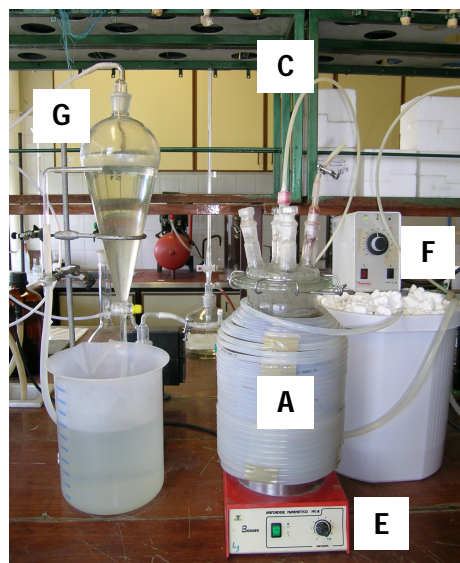


Figura 3-3 Montagem experimental.

Legenda:

- A - Meio reaccional
- B - Tubo de alimentação e descarga
- C - Saída do biogás
- D - Termómetro
- E - Agitador magnético
- F - Termostato e banho termostaticado
- G - Ampola de quantificação de biogás

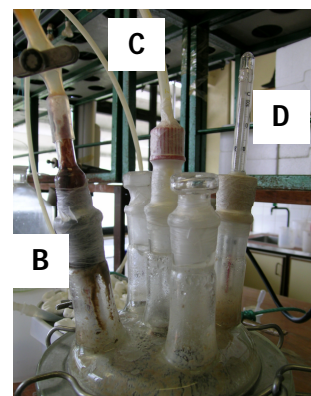


Figura 3-4 Pormenor da tampa de vidro.

Cada reactor ASBR foi operado continuamente por ciclos ao longo de vários dias seguidos. Cada ciclo compreendia 5 fases distintas e sequenciais:

- Alimentação de um volume pré-determinado do efluente a tratar através do tubo de alimentação, ponto B das figuras anteriores;
- Início da fase de reacção e arranque da agitação;
- Fim da fase de reacção e início da fase de sedimentação através da paragem da agitação;
- Extracção do efluente tratado, pelo mesmo tubo através do qual foi feita a alimentação. O volume extraído foi sempre igual ao volume alimentado.
- Quando necessário foi realizada a purga de lamas em excesso.

3.2 Condições de operação e plano experimental

Como foi referido no capítulo da revisão bibliográfica (Capítulo 2), os reactores SBR anaeróbios são reactores descontínuos sequenciais e, neste caso, fechados hermeticamente. A sua operação consiste na repetição de uma sequência de ciclos (alimentação + reacção + sedimentação + descarga + purga de lamas) em que a última fase só se efectua apenas quando se verifique ser necessário. O tempo de duração de cada uma destas fases varia de acordo com o plano experimental estabelecido.

A operação dos reactores teve em consideração alguns aspectos:

- A alimentação e a descarga dos reactores foram feitas de uma forma “instantânea”, isto é, sem recorrer ao uso de bombas doseadoras. Em vez disso foram usadas seringas de plástico comerciais que se adaptavam ao tubo de alimentação / descarga (ponto B das Figuras 3-2 e 3-4).
- A descarga foi realizada com a agitação desligada e após o fim do tempo de sedimentação.

Os parâmetros operacionais aplicados a cada reactor estão descritos na Tabela 3-2.

Tabela 3-2 Condições de operação de cada um dos reactores.

Reactor	Inóculo	Temperatura ($\pm 2^\circ\text{C}$)	TRH (d)	Tempo de funcionamento de cada fase
A	Adaptado	37	25	$t_{\text{ciclo}} = 24 \text{ h}$ $t_{\text{reacção}} = 22 \text{ h}$ $t_{\text{sedimentação}} = 2 \text{ h}$
B	Não Adaptado	37	25	
C	Não Adaptado	55	25	
D	Adaptado	37	10	
E	Adaptado	55	25	

A escolha do inóculo para os reactores foi um problema que surgiu no início deste trabalho. Alguns estudos realizados anteriormente no mesmo grupo de investigação não mostraram informações conclusivas no que diz respeito ao tipo de inóculo a utilizar: adaptado ou não adaptado ao substrato em estudo. Decidiu-se então, começar por arrancar

dois reactores - Reactores A e B - ambos a 37°C mas com inóculos diferentes, de forma a poder avaliar-se o efeito do tipo de adaptação do inóculo ao substrato no desempenho dos reactores.

Ainda dentro do mesmo grupo de investigação, alguns resultados obtidos anteriormente mostraram que a operação de reactores descontínuos (ensaios *batch*) com inóculo adaptado a 55°C não produziu resultados satisfatórios em termos de qualidade do efluente tratado, conduzindo mesmo à acidificação dos reactores, por acumulação de ácidos orgânicos voláteis (AOV). Decidiu-se então arrancar o terceiro reactor - Reactor C - a operar a 55°C, com inóculo não adaptado. Esta etapa, iniciada sensivelmente 15 dias após a anterior, apresentava ainda outro objectivo específico: estudar a aclimatização do inóculo à temperatura de 55°C, uma vez que só se dispunha de inóculo aclimatizado à temperatura de 37°C.

No seguimento dos resultados obtidos, com os Reactores A, B e C, foi decidido arrancar dois outros reactores - Reactores D e E - com inóculo adaptado ao efluente em estudo, operando um a 37°C e outro a 55°C. O Reactor D operou a um TRH inferior (10 dias) para se poder verificar o efeito do TRH no funcionamento dos reactores.

Baseado em estudos anteriores, foi escolhido um tempo total de ciclo de 24 h, com uma fase de reacção com a duração de 22 h e uma fase de sedimentação a durar 2 h. As fases de alimentação do substrato, de extracção do efluente tratado e de purga de lamas, foram realizadas em períodos de tempo muito curtos, e portanto consideradas desprezáveis.

No arranque de cada um destes reactores foi aplicada uma carga orgânica volúmica de 0,20 gCQO/L/d, tendo sido feitos posteriormente incrementos de carga de aproximadamente 20% sempre que se considerava ter sido atingido um estado estacionário.

Os TRH foram escolhidos de forma a facilitar as condições de alimentação do substrato e extracção do efluente tratado. Para se aplicarem tempos inferiores ter-se-iam de alimentar e extrair grandes volumes de líquido, o que provocaria uma depressão dentro do reactor.

3.3 Caracterização do substrato e inóculos

3.3.1 Substrato

O substrato utilizado nestes estudos foi um efluente sintético preparado em laboratório, simulando um efluente real de uma indústria de lacticínios. Era constituído por leite meio-gordo adquirido numa cadeia de supermercados, diluído até a concentração desejada com água da rede pública, tendo sido ainda suplementado com nutrientes (macro e micro) e alcalinidade, na forma de NaHCO_3 , de forma a manter a capacidade tampão do meio reaccional. A alimentação foi preparada diariamente momentos antes de se efectuar a sua introdução nos reactores. A adição de nutrientes foi feita à razão de 1mL de cada solução por cada litro de alimentação, com base nos estudos de Nadais (2001) (Tabela 3-3). Com base no mesmo estudo, nos primeiros dias de operação de cada reactor foi adicionado NaHCO_3 à razão de 5g/L de alimentação, para prevenir possíveis abaixamentos de pH. Durante o decorrer do trabalho, quando se verificou que o pH se mantinha constante, esta razão foi reduzida e até suprimida quando se verificou não ser necessária.

Tabela 3-3 Composição das soluções de macro e micronutrientes adicionadas a cada alimentação (adaptado de Nadais, 2001).

Macronutrientes (mg/L)		Micronutrientes (mg/L)	
NH_4Cl	170	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2454
KH_2PO_4	37	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2000
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	8	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	500
$\text{MgSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	9	$\text{CuCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	30
		ZnCl_2	50
		H_3BO_3	50
		$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	90
		EDTA	1000
		$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	50

Por se ter verificado que a composição do leite variava bastante de pacote para pacote, decidiu-se determinar o CQO total e filtrado (CQO_t e CQO_f , respectivamente) sempre que

se abria um novo pacote. Os resultados obtidos nesta caracterização estão expressos na Tabela 3-4.

Tabela 3-4 Características físico-químicas do leite. Análises realizadas no momento de abertura de cada pacote.

Parâmetro	Valor
pH	6,47 - 6,59
CQO _t (g O ₂ /L)	138 - 160
CQO _f (g O ₂ /L)	137 - 158
% CQO _f	98,8 - 99,5
SST (mg/L)	259
SSV (mg/L)	244
% SSV	94,2
Azoto Kjeldahl filtrado (mg N/L)	1343
Fósforo total filtrado (mg P/L)	958
CQO/N/P	100 / 0,85 / 0,61 100 / 0,98 / 0,70

3.3.2 Inóculos

Neste estudo foram utilizados dois tipos de inóculo:

- Inóculo não adaptado, recolhido num digestor anaeróbio mesofílico, que trata as lamas em excesso de um sistema de lamas activadas de uma estação de tratamento de águas residuais urbanas.
- Inóculo adaptado, recolhido num digestor anaeróbio mesofílico, que trata o efluente resultante de uma indústria de processamento de leite.

Apesar de se assumirem estas designações, é necessário salientar que ela gera muitas vezes alguma controvérsia. É difícil definir a fronteira entre o que é ou não um inóculo adaptado. Se é adaptado, então a que tipo de substrato? Será adaptado a alguma carga orgânica ou a uma temperatura específica? O inóculo utilizado neste estudo foi recolhido numa indústria de lacticínios (produção de queijo flamengo). Dado o leite ser a matéria-prima da indústria

em causa, considera-se que este inóculo tem algum grau de adaptação, pelo que se denomina aqui de inóculo adaptado. É de referir no entanto, que este inóculo não está adaptado à temperatura de 55°C, dado que o reactor anaeróbio industrial opera a 37°C.

Os inóculos foram recolhidos sempre que foram necessários para os ensaios. Numa primeira fase foram feitas duas colheitas, uma no digestor anaeróbio de lamas municipais e outra no digestor anaeróbio existente numa indústria de processamento de leite. Esta recolha permitiu arrancar o Reactor A (inóculo adaptado a 37°C) e o Reactor B (inóculo não adaptado a 37°C), e mais tarde o reactor C (inóculo não adaptado a 55°C).

Numa segunda fase foi feita outra recolha de inóculo no digestor anaeróbio da unidade industrial. Esta segunda recolha serviu para inocular os Reactores D e E com inóculo adaptado ao tipo de substrato, sendo um operado a 37°C e outro a 55°C, respectivamente.

Antes da sua utilização, cada inóculo teve de ser sujeito a uma série de operações para que fossem eliminadas impurezas (sólidos de maiores dimensões) e minimizadas as interferências provocadas pelo seu teor em matéria orgânica solúvel:

1. Foi crivado com uma rede de malha de aproximadamente 3 mm, para remoção de sólidos grosseiros;
2. Foi lavado com água da rede pública para remoção de algumas partículas e para diminuição do seu teor em matéria orgânica (CQO_f);
3. Foi espessado por acção gravítica, de forma a permitir o uso de pequenas quantidades para inoculação dos reactores.
4. Estas duas últimas operações foram repetidas até se obter um CQO_f inferior a 100mg/L.

Depois desta preparação os inóculos apresentaram as características descritas na Tabela 3-5.

Tabela 3-5 Caracterização físico-química dos inóculos utilizados.

Reactor	Tipo de inóculo	Parâmetro		% SSV
		SST (mg/L)	SSV (mg/L)	
A	Adaptado	27833	21087	75,8
B	Não adaptado	32653	19440	59,5
C	Não adaptado	45953	26787	58,3
D	Adaptado	36780	28070	76,3
E	Adaptado ¹⁾	30380	21630	71,2

¹⁾ Após aclimatização a 55°C

O inóculo utilizado no arranque dos Reactores B e C foi o mesmo: não adaptado e, no caso do Reactor C, não aclimatizado. A variação da concentração em SST e SSV é devida ao atraso de duas semanas no arranque do terceiro reactor, que proporcionou o espessamento do inóculo. O inóculo do Reactor D é da mesma fonte do inóculo do Reactor A, apenas foi recolhido em campanhas diferentes, daí a diferença na caracterização em sólidos. No caso do Reactor E, após uma série de operações de limpeza e de remoção do teor em matéria orgânica, o inóculo foi colocado num reactor onde foi realizado o processo de aclimatização. Após se ter atingido a temperatura de 55°C, o inóculo foi lavado várias vezes e caracterizado para posterior arranque do reactor.

Os dados constantes da Tabela 3-5 permitem verificar uma clara diferença no teor em SSV entre os inóculos adaptado e não adaptado. No caso do inóculo não adaptado a percentagem de SSV é de cerca de 60%, enquanto no caso do inóculo adaptado essa percentagem atinge os 76%.

A escolha da concentração inicial de biomassa para inocular os reactores teve de ter em atenção dois factores importantes: em primeiro lugar não poderia ser muito baixa porque, à partida, quanto mais baixa fosse menos carga orgânica poderia ser alimentada; em segundo lugar, e devido à especificidade dos reactores ASBR, não poderia ser muito elevada pois poderia prejudicar a sedimentabilidade da biomassa, deteriorando a qualidade do efluente tratado.

Numa primeira fase, decidiu-se inocular os Reactores A, B e C com uma concentração de 7,5 gSSV/L, o que resultou na obtenção de uma separação sólido/líquido eficiente. Com o decorrer do trabalho a concentração de biomassa foi aumentando, não se tendo verificado diminuição da capacidade de sedimentabilidade. No fim desta fase optou-se por manter a concentração em 10 gSSV/L, tendo sido esta a concentração usada para a inoculação dos reactores D e E, já na fase seguinte.

Na Tabela 3-6 encontram-se resumidas as várias quantidades de efluente, leite e biomassa usadas no arranque de cada um dos reactores.

Tabela 3-6 Compilação das várias quantidades de leite e biomassa utilizadas no dia do arranque dos reactores, consoante as condições operatórias do reactor.

Reactor	TRH (d)	V _{alim} (mL)	Cv (gCQO/L/d)	[Substrato] (gCQO/L)	V _{leite} (mL)	[Inóculo] (gSSV/L)	V _{inóculo} (mL)
A	25	200	0,20	5	7	7,5	1800
B	25	200	0,20	5	7	7,5	1900
C	25	200	0,20	5	7	7,5	1400
D	10	500	0,20	2	7	10,0	1800
E	25	200	0,20	5	7	10,0	2300

3.4 Monitorização dos reactores

A análise do desempenho de cada reactor foi feita através da monitorização de vários parâmetros apropriados ao caso de reactores anaeróbios. Esses parâmetros e a sua periodicidade são apresentados na Tabela 3-7. Em seguida faz-se uma breve referência às metodologias usadas, que são explicadas em profundidade no Anexo I.

Tabela 3-7 Parâmetros e periodicidade da realização das análises físico-químicas na monitorização dos reactores.

Periodicidade			
Diária	3 vezes/semana	Semanal	Quando necessário
- CQO _f tratado	- AOV tratado	- SST licor mistura	- pH leite
- Volume de biogás	- pH tratado	- SSV licor mistura	- CQO _t leite
- Composição do biogás	- Alcalinidade tratado		- CQO _f leite

As análises físico-químicas foram efectuadas segundo as metodologias descritas na 21^a Edição do *Standard methods for the examination of water and wastewater*. Sempre que se desejou determinar algum destes parâmetros relativo à fracção não particulada (solúvel + coloidal) da amostra, foi previamente realizada a filtração da amostra utilizando papel de filtro da Marca Reeve Angel, grade 403, e utilizado o filtrado obtido.

Os parâmetros SST e SSV foram determinados utilizando os Métodos 2540 D e 2540 E, respectivamente. O CQO_f e CQO_t determinaram-se pelo Método 5220 D, habitualmente designado de Método de Refluxo Fechado - Método Colorimétrico. A alcalinidade foi determinada pelo Método 2320 B, por titulação com uma solução aquosa de HCl até pH=4,5, medido com um medidor CONSORT C535 acoplado a um eléctrodo de xerolite.

A determinação do azoto de Kjeldahl não é mais do que a determinação do azoto orgânico e do azoto amoniacal, em simultâneo. É assim designado devido ao método utilizado: método de Kjeldahl. Neste trabalho foi determinado pelo Método 4500-N_{org} B, Método Kjeldahl Macro. O fósforo total foi determinado pelo Método 4500-P E, Método do Ácido Ascórbico.

Os AOV foram determinados por cromatografia gasosa, utilizando um cromatógrafo com detector de ionização de chama (FID), marca Chrompack, modelo CP9001. A quantidade de biogás produzida foi determinada por deslocamento de água e a sua composição determinada por cromatografia gasosa utilizando um cromatógrafo da marca SRI, modelo 8610 C, equipado com detector de condutividade térmica (TCD).

4 RESULTADOS EXPERIMENTAIS DISCUSSÃO

A operação dos reactores utilizados neste trabalho teve como finalidade avaliar o desempenho de reactores anaeróbios sequenciais (ASBR) no tratamento de efluentes produzidos nas indústrias de processamento de leite, mediante a aplicação de condições operatórias específicas.

O trabalho foi desenvolvido em duas partes: a primeira com o objectivo de avaliar o efeito do tipo de inóculo (adaptado e não adaptado) e da temperatura de operação (gama mesofílica e termofílica); e a segunda com o objectivo de avaliar o efeito do tempo de retenção hidráulico. Foram operados reactores de uma forma faseada e distribuída ao longo de várias semanas, conforme se pode observar na Tabela 4-1:

Tabela 4-1 Cronograma do trabalho experimental.

Semana Reactor	1	2	3	4-12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
A															
B															
C															
D															
E															

A apresentação e análise dos resultados são feitas em duas vertentes: uma primeira abordagem com os resultados da operação diária dos reactores, permitindo avaliar a sua resposta à operação contínua e prolongada, seguida da apresentação dos resultados de estado estacionário, que permitem estabelecer correlações entre variáveis de operação e representar o comportamento de cada reactor para cada uma dessas variáveis.

A apresentação dos resultados de evolução temporal para os vários parâmetros, é realizada na mesma ordem pela qual foi iniciada a operação de cada um dos cinco reactores, sendo apresentada a justificação subjacente a cada condição de operação. Nesta parte, é ainda apresentada a metodologia e os resultados obtidos durante a aclimatização do inóculo à temperatura de 55°C. Os resultados de estado estacionário são apresentados de forma a permitir a fácil comparação entre o funcionamento dos reactores a várias condições de operação.

4.1 Aclimatização da biomassa à temperatura termofílica

Uma vez que não foi possível encontrar inóculo aclimatizado à temperatura termofílica, houve a necessidade de aclimatizar o inóculo disponível à temperatura mesofílica, quer o adaptado quer o não adaptado ao substrato em causa (leite). A metodologia escolhida foi a de aumentar gradualmente a temperatura até aos 55°C, em degraus de 2°C a cada 2 dias (aproximadamente). Como exemplo, apresentam-se os resultados obtidos com o inóculo não adaptado ao substrato (Gráficos 4-1 e 4-2). Estes resultados obtidos no período de aclimatização são correspondentes aos primeiros 37 dias de operação do Reactor C. A metodologia utilizada na aclimatização do inóculo adaptado ao substrato (Reactor E) foi a mesma. Todos os resultados da corrente gasosa (produção de biogás e de metano) são apresentados em condições PTN ($P = 1\text{ atm}$; $T = 0^\circ\text{C}$), por aplicação da Equação dos Gases Ideais.

Durante este período de aclimatização, foi aplicada apenas uma carga baixa de 0,20gCQO/L/d, em que o CQO da alimentação foi de 5000 mg/L.

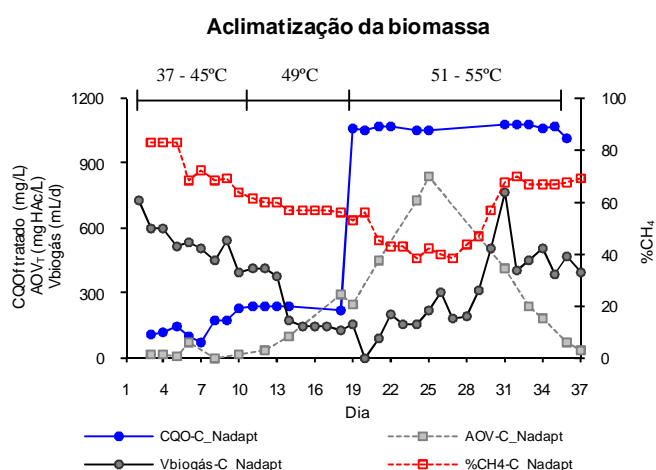


Gráfico 4-1 Aclimatização da biomassa não adaptada, Reactor C.

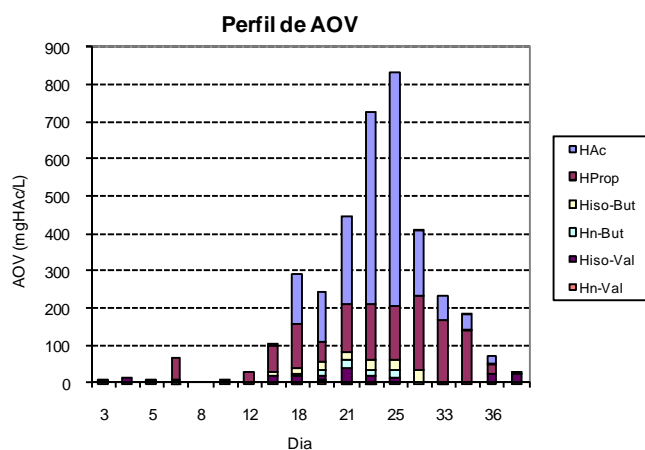


Gráfico 4-2 Produção de AOV durante o período de aclimatização da biomassa não adaptada, Reactor C.

Como se pode verificar nos Gráficos 4-1 e 4-2, o aumento gradual da temperatura provocou grandes alterações no comportamento do reactor, apesar da carga alimentada ao reactor se ter mantido constante. O CQO_f do efluente tratado não registou grandes alterações até uma temperatura de cerca de 50°C, a partir da qual pode ver-se um aumento súbito de cerca de 300% do seu valor (passou de 300mg/L para 1000mg/L). No que diz respeito ao teor de AOV, verifica-se também uma grande acumulação a partir dos 50°C (atingindo um valor máximo de cerca 800mgHAc/L). Nesse período verifica-se que o biogás apresenta uma diminuição do teor em metano, apresentado um mínimo de cerca de 40% correspondente ao pico de AOV no dia 25. Como seria de esperar, a produção de biogás foi diminuindo com o aumento da temperatura, não tendo sido registada nenhuma produção no dia 21, período correspondente ao aumento súbito do CQO_f do efluente tratado. O pico máximo de produção de biogás, registado por volta do dia 31, pode ser explicado pela degradação dos ácidos voláteis acumulados nos dias anteriores.

No Gráfico 4-2 pode verificar-se que o ácido volátil que se produz em maior quantidade é o ácido acético seguido do ácido propiónico. É de realçar que com o decorrer dos dias, à medida que vai aumentando a produção de biogás e o teor em metano, o ácido acético diminui bastante, pelo que é substituído pelo ácido propiónico como aquele que se encontra presente em maior quantidade.

Boušková *et al* (2005) também estudaram a aclimatização de biomassa mesofílica para temperaturas termofílicas mas neste caso aplicadas na estabilização de lamas provenientes de estações de tratamento de efluentes municipais. Nesse estudo, após a operação de dois reactores mesofílicos durante dois meses, foram aplicadas duas metodologias de aclimatização destes reactores mesofílicos estáveis a reactores termofílicos: num reactor foram realizados vários aumentos da temperatura até aos 55°C (aumento para 42°C no dia 1, para 47°C no dia 11, para 51°C no dia 35 e para 55°C no dia 42), onde o TRH e a Cv foram mantidos constantes; no outro reactor foi realizado apenas um aumento brusco da temperatura até aos 55°C (aumento para 55°C no dia 1). O substrato utilizado foi uma mistura de lamas primárias e lamas activadas e o inóculo foi lama anaeróbia de uma ETAR, a operar em condições mesofílicas.

Nestes estudos, os autores puderam registar alguns resultados similares aos obtidos neste trabalho. No primeiro reactor, o primeiro incremento de temperatura até aos 42°C não provocou alterações significativas no desempenho do reactor, enquanto o aumento para os 47°C fez diminuir a produção de biogás e o seu teor em metano, e provocou uma acumulação de AOV (de modo análogo ao verificado neste trabalho). Os sucessivos incrementos também começaram por fazer diminuir a produção de biogás e o teor em metano, mas com o passar dos dias ocorreu sempre a recuperação do funcionamento dos reactores. No final da aclimatização, a produção de biogás foi superior à obtida no período mesofílico, embora o teor em metano tenha sido ligeiramente inferior.

No caso do segundo reactor, verificou-se logo uma súbita diminuição da produção de biogás após o aumento da temperatura para os 55°C, o que corresponde a uma acumulação significativa de AOV e a uma diminuição do teor em metano no biogás. No entanto, após 28 dias de operação o reactor atingiu um novo estado estacionário, no qual também se

verifica uma produção de biogás superior à obtida no período mesofílico, mas com um teor de metano inferior. Os autores concluíram assim que a aclimatização em uma só etapa produz resultados satisfatórios num espaço de tempo mais curto (sensivelmente metade do tempo requerido para a aclimatização em várias etapas).

Boušková *et al* (2005) concluíram ainda que a rápida adaptação do sistema a condições termofílicas parece indicar a presença de microrganismos termofílicos em inóculos mesofílicos, e que as espécies dominantes na digestão anaeróbia termofílica não serão os microrganismos mesofílicos adaptados, mas os microrganismos termofílicos já presentes no inóculo, e que rapidamente se tornaram dominantes em condições termofílicas.

4.2 Resultados da operação dos reactores

Os resultados serão apresentados de modo a se poder ter informações do efeito de três parâmetros: tipo de inóculo (adaptado e não adaptado), temperatura de operação (gama mesofílica e gama termofílica) e tempo de retenção hidráulico (25 e 10 dias).

4.2.1 Efeito do tipo de inóculo

i. Operação na gama mesofílica

Uma vez que os resultados obtidos anteriormente no grupo de investigação não permitiram concluir qual o tipo de inóculo que promoveria uma remoção de matéria orgânica mais eficiente, foi decidido operar dois reactores (Reactor A e Reactor B) inoculados com biomassa de diferentes origens: uma considerada adaptada ao substrato (proveniente de um digestor anaeróbio existente numa ETAR de uma indústria de lacticínios) e outra não adaptada (proveniente do digestor de lamas de uma ETAR doméstica). Ambos os reactores operaram na gama mesofílica com um TRH = 25d. O Reactor A foi inoculado com biomassa adaptada e o Reactor B com biomassa não adaptada. No Gráfico 4-3 é apresentado o efeito do aumento da carga orgânica volúmica aplicada aos dois reactores na

qualidade do efluente tratado (medida em termos de CQO da fracção filtrada) e na produção de biogás.

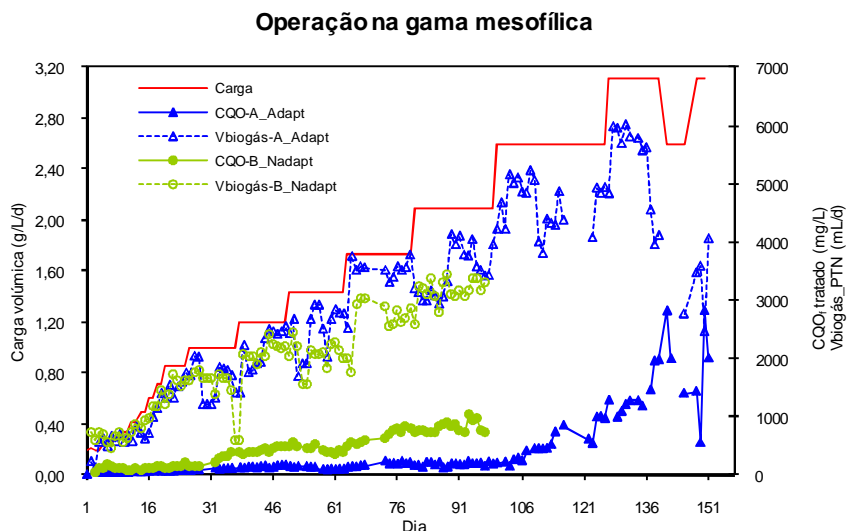


Gráfico 4-3 Evolução do CQO_f do efluente tratado e da produção de biogás (em condições PTN) com o aumento de carga orgânica volumica, para $T = 37^\circ\text{C}$ e $TRH = 25\text{d}$. **Reactor A:** inóculo adaptado; **Reactor B:** inóculo não adaptado.

A análise do Gráfico 4-3 permite verificar que, para as cargas mais baixas (até $1,00\text{gCQO/L/d}$) o CQO_f do efluente tratado é semelhante para ambos os reactores (primeiros 30 dias de operação). O mesmo acontece com a produção de biogás, onde não se verificam diferenças significativas nesse período. A aplicação de cargas orgânicas superiores provocou, no entanto, alterações significativas no comportamento dos dois reactores. Pode verificar-se que no Reactor B o CQO_f do efluente tratado aumentou mais com o aumento da carga aplicada, apresentando assim uma qualidade inferior, pelo que se distanciou do comportamento Reactor A. A produção de biogás no Reactor B é inferior à apresentada pelo Reactor A. No caso do Reactor A, onde foram aplicadas cargas mais elevadas, verifica-se que apenas a partir da carga de $2,60\text{gCQO/L/d}$ se verifica um aumento considerável do CQO_f do efluente tratado, com uma produção de biogás mais instável. Na última carga aplicada ($3,12\text{gCQO/L/d}$) não foi possível atingir um estado estacionário, verificando-se uma diminuição progressiva do volume de biogás produzido. Nos primeiros dias em que foi aplicada esta carga verificou-se um aumento da produção de biogás, mas com o decorrer da operação ocorreu uma forte produção de espumas no interior do reactor que foram arrastadas para a linha gasosa, pelo que não foi possível a

correcta quantificação do biogás produzido. Este problema de operação foi também relatado por Nadais (2001) nos seus estudos sobre a degradação em reactores UASB dos componentes presentes no leite. A formação de espumas está quase sempre associada às elevadas concentrações de glúcidos nos efluentes derivados do leite.

No Gráfico 4-4 são apresentados alguns dos resultados de estado estacionário, de modo a ser possível a comparação entre o funcionamento destes dois reactores. As barras de erro representam o desvio padrão. No Anexo III encontra-se a compilação de todos os resultados de estado estacionário resultantes da operação de todos os reactores operados neste trabalho.

Operação na gama mesofílica

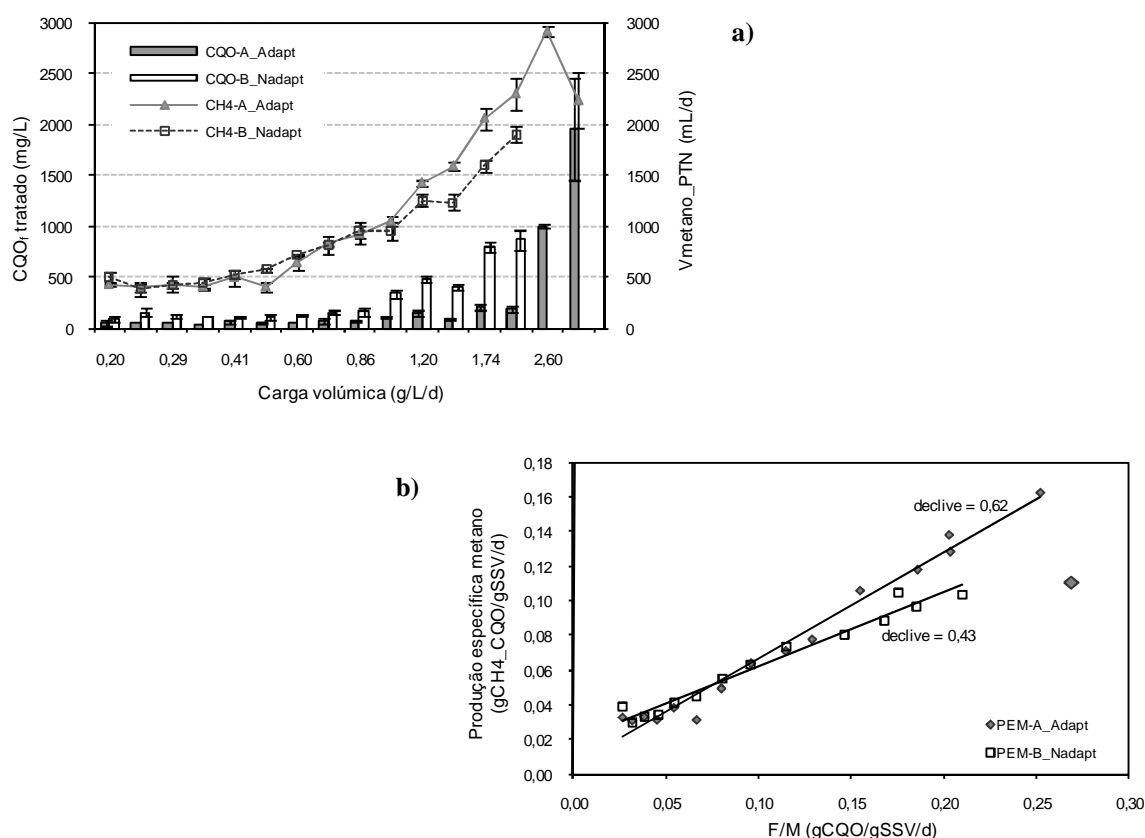


Gráfico 4-4 Valores de CQO_f do efluente tratado e de produção diária de metano em função da carga aplicada, gráfico a), e produção específica de metano em função de F/M, gráfico b), para T = 37°C e TRH = 25d. **Reactor A:** inóculo adaptado; **Reactor B:** inóculo não adaptado.

Como se pode verificar no Gráfico 4-4 a) a inoculação de reactores com biomassa adaptada ao substrato em estudo é claramente benéfica no tratamento deste tipo de efluentes,

principalmente quando os reactores são operados a cargas orgânicas mais elevadas. Refira-se que os resultados apresentados para a última carga aplicada ao Reactor A (3,12gCQO/L/d) não representam um verdadeiro estado estacionário, como se pode verificar pelos valores elevados dos desvios padrão. O Gráfico 4-4 b) mostra a produção específica de metano (expressa em equivalentes de CQO) em função da razão F/M (neste trabalho foi calculada em termos de CQO e não de CBO₅). A produção específica de metano é calculada convertendo o volume de metano produzido (mLCH₄/d) no seu valor equivalente em CQO (mgCH₄_CQO/d) (ver Anexo II) e dividindo pela massa de SSV presente no reactor. Este gráfico mostra que a produção de metano aumenta linearmente com o aumento da razão F/M. No caso da biomassa adaptada obtém-se um valor de 0,62gCH₄_CQO/gCQO alimentado (o valor correspondente à carga mais elevada não foi considerado, em destaque no gráfico) enquanto no caso da biomassa não adaptada se obtém um valor de 0,43gCH₄_CQO/gCQO alimentado, significando um rendimento em metano bastante inferior.

Como já foi referido, no Reactor B o CQO_f do efluente tratado foi sempre superior, pelo que a degradação dos compostos orgânicos é mais incompleta do que a verificada no caso do Reactor A. Este facto, aliado à concentração superior de AOV, faz com que se obtenham volumes de biogás e de metano inferiores, uma vez que o teor em metano nos dois reactores é semelhante e de cerca de 62%. No que diz respeito à percentagem de remoção de CQO verifica-se que para ambos os reactores se verificam %R sempre superiores a 97%. No entanto, como o Reactor A (biomassa adaptada) apresentou melhor desempenho nas cargas mais elevadas foi decidido parar a operação do Reactor B na carga 2,10gCQO/L/d para a qual se obtiveram valores de CQO_f do efluente tratado próximos de 1000mg/L, quando comparados com os obtidos para o Reactor A para a mesma carga (200mg/L)

A percentagem de remoção de CQO obtida neste trabalho é superior à obtida por Nadais *et al* (2005). No seu estudo utilizando o leite como substrato estes autores obtiveram remoções CQO de aproximadamente 90% em todo o tempo de operação de reactores UASB a TRH bastante mais baixos (TRH = 16h). Esta percentagem só diminuiu quando foram aplicados tempos de retenção mais baixos (6 e 8 h).

A percentagem de metanização (calculada com base no CQO removido) obtida neste trabalho foi de 70%, média global, valor muito próximo do obtido por Nadais *et al* (2005) para cargas aplicadas semelhantes, embora com TRH muito diferentes. Esta discrepância entre o CQO removido e o CQO metanizado é defendida por muitos autores como sendo um resultado da acumulação de matéria orgânica no interior dos reactores (manto de lamas).

No Gráfico 4-5 é apresentada a distribuição dos AOV formados em todas as cargas aplicadas aos Reactores A e B. No caso do Reactor A é igualmente apresentada a concentração de pico para cada ácido na última carga aplicada, onde não foi obtido um estado estacionário. A produção de AOV foi muito baixa para ambos os reactores, na maioria dos períodos de operação. No Reactor A registou-se um valor médio (excluindo a última carga) de 202,0mgHAc/L para a $C_v=0,72\text{gCQO/L/d}$, com uma prevalência do ácido *iso*-valérico nas cargas aplicadas mais elevadas. No Reactor B registou-se um valor médio de 126,3mgHAc/L para a $C_v=1,00\text{gCQO/L/d}$, com uma prevalência muito clara dos ácidos acético e *iso*-valérico. Na carga de 3,12gCQO/L/d aplicada apenas no Reactor A, os ácidos que mais contribuíram para o aumento da concentração total de AOV foram o ácido acético e o ácido propiónico.

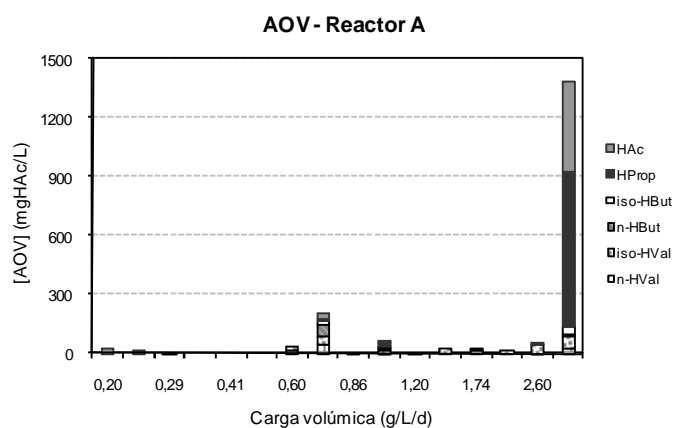
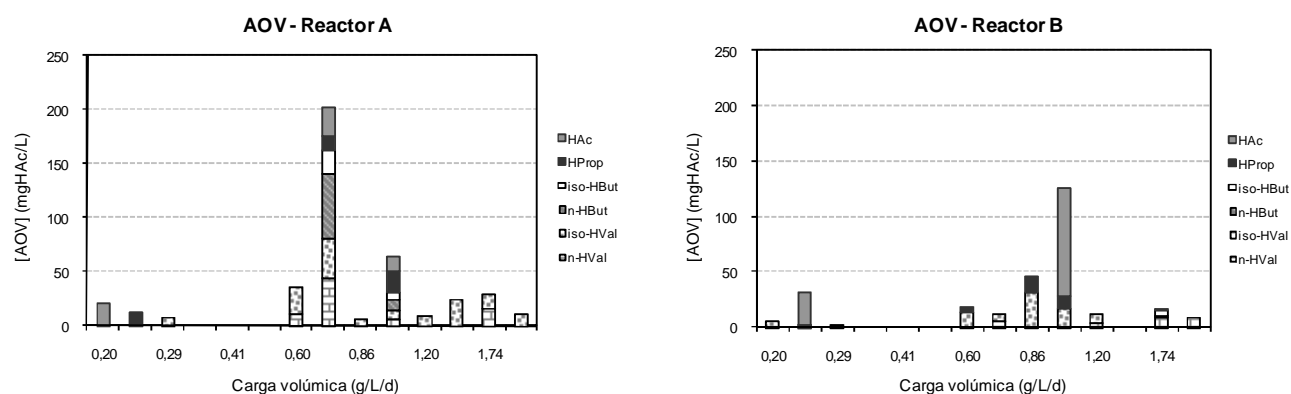


Gráfico 4-5 Distribuição dos AOV formados, para $T = 37^\circ\text{C}$ e $\text{TRH} = 25\text{d}$. **Reactor A:** inóculo adaptado; **Reactor B:** inóculo não adaptado.



A degradação/acumulação dos ácidos voláteis foi analisada por Wang *et al* (1999) num estudo sobre como a configuração estrutural de cada ácido pode afectar a sua degradação, no processo de digestão anaeróbia mesofílica de lamas. Estes autores verificaram que a acumulação de AOV ocorria da seguinte forma:

$$\text{HAc} > \text{HProp} > \text{iso-HVal} > \text{iso-HBut}$$

Isto significa que a taxa de conversão dos ácidos na configuração “n” é maior do que a dos ácidos na configuração “iso”. Neste estudo também foi constatado que a taxa de conversão de AOV ocorria da seguinte forma:

$$n\text{-HBut} > (\text{HAc}; n\text{-HCap}; n\text{-HVal}; \text{iso-HBut}) > (\text{HProp}; \text{iso-HVal}) > \text{iso-HCap}$$

Wang *et al* (1999) concluíram que a taxa de conversão do ácido *n*-butírico é superior à do ácido acético porque pode ser consumido por duas vias: via β -oxidação e via isomerização acompanhada da migração do grupo carboxilo para o átomo de carbono adjacente. A taxa de conversão do ácido *n*-butírico a *iso*-butírico parece ser superior à taxa de conversão inversa. No caso dos ácidos *n*- e *iso*-valérico, a isomerização não ficou provada. Neste caso, a molécula do ácido *iso*-valérico não se forma pela migração do grupo carboxilo para o átomo de carbono adjacente na molécula do ácido *n*-valérico. Na degradação do ácido *n*-valérico apenas se formou ácido acético e propiónico, sugerindo que a degradação deste ácido acontece apenas via β -oxidação. O ácido acético foi directamente degradado a CH_4 e a CO_2 pelas metanogénicas, enquanto os ácidos com mais de 4 carbonos não são utilizados por estes microrganismos, tendo de ser convertidos primeiramente a ácido acético, o que pode provocar a sua acumulação. O ácido propiónico também se encontrou em concentrações elevadas porque é produzido a partir de outros ácidos com número ímpar de

átomos de carbono, via β -oxidação, e porque a sua conversão é marcadamente inibida quando estão presentes concentrações de ácido acético superior a 1400mg/L.

ii. Operação na gama termofílica

Foram operados dois reactores na gama termofílica, para um TRH de 25 dias: um reactor com biomassa não adaptada (Reactor C) e um reactor com biomassa adaptada (Reactor E).

Assim, após o arranque dos Reactores A e B, e com o objectivo de se estudar o efeito do aumento da temperatura de operação para a gama termofílica, iniciou-se primeiramente a operação de um terceiro reactor (Reactor C), inoculado com biomassa não adaptada. A escolha do tipo de inóculo recaiu no inóculo não adaptado dado este ser proveniente de uma ETAR doméstica, e por isso poder apresentar uma maior diversidade de microrganismos devido à maior complexidade dos substratos existentes no efluente doméstico. Os resultados da operação do Reactor C, a 55°C e com um TRH = 25d, são apresentados no Gráfico 4-6.

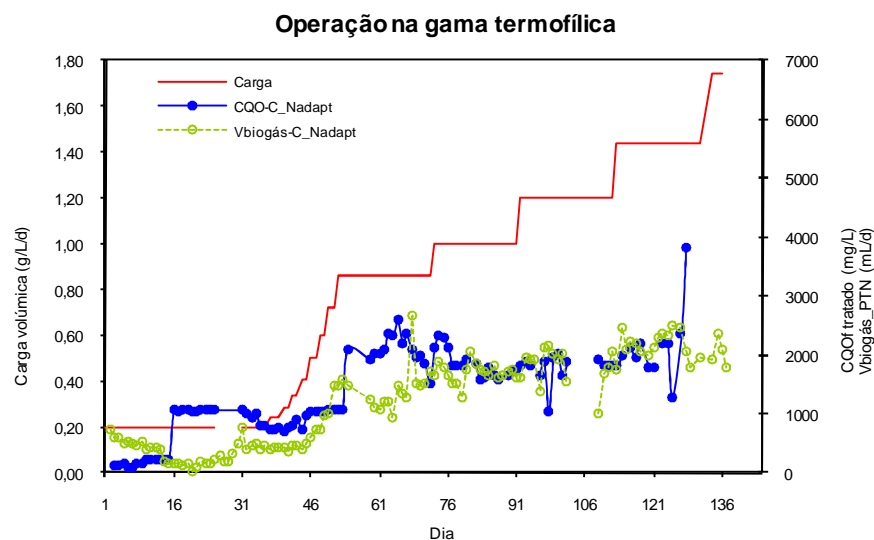


Gráfico 4-6 Evolução do CQO_f do efluente tratado e da produção de biogás (em condições PTN) com o aumento de carga orgânica volúmica, para T = 55°C e TRH = 25d. **Reactor C:** inóculo não adaptado.

Neste gráfico, os primeiros 37 dias correspondem ao período de aclimatização da biomassa à temperatura de 55°C, cujos resultados foram apresentados com mais detalhe no ponto 4.1 deste capítulo.

A operação deste reactor termofílico não veio a revelar-se muito promissora, uma vez que o efluente tratado apresentou uma concentração bastante elevada de CQO (valores na ordem dos 2000mg/L, para cargas superiores a 0,80gCQO/L/d), e uma produção diária de biogás instável. Após cerca de 3 meses de operação deste reactor termofílico arrancou-se um segundo reactor também termofílico, mas desta vez inoculado com biomassa adaptada - Reactor E. Os resultados obtidos estão expressos no Gráfico 4-7.

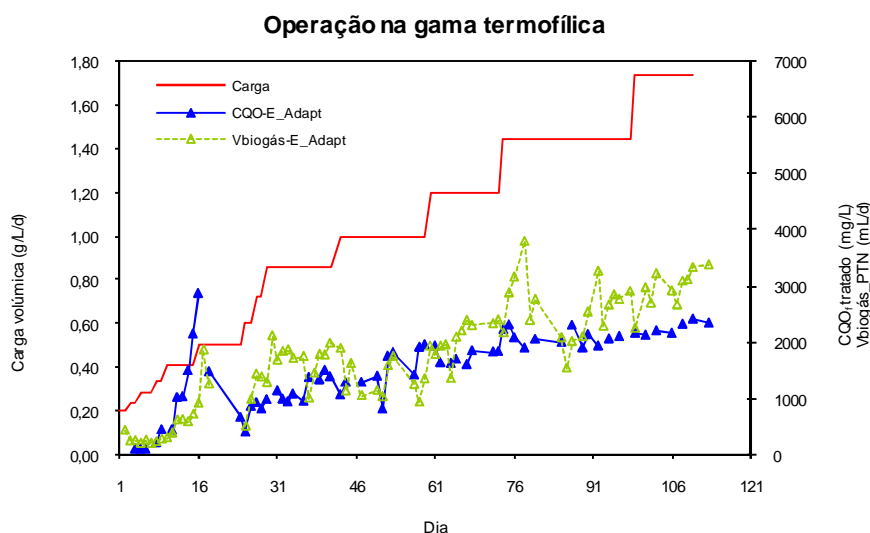


Gráfico 4-7 Evolução do CQO_f do efluente tratado e da produção de biogás (em condições PTN) com o aumento de carga orgânica volumétrica, para T = 55°C e TRH = 25d. **Reactor E:** inóculo adaptado.

Como se pode verificar neste gráfico, a operação deste reactor termofílico, é acompanhada por alguma instabilidade, quer na remoção de CQO, quer na produção de biogás, e por uma difícil obtenção de estados estacionários, de modo análogo ao verificado com o reactor termofílico anterior (Reactor C). Os valores de CQO_f do efluente tratado para o Reactor E são mais baixos nas cargas aplicadas mais baixas, em relação ao Reactor C, atingindo-se valores na ordem dos 2000mg/L apenas para cargas mais elevadas (superiores a 1,20gCQO/L/d). A produção de biogás é superior no caso do Reactor E, quando comparado com o Reactor C, devido à maior quantidade de matéria orgânica degradada.

No Gráfico 4-8 são apresentados resultados de estado estacionário destes dois reactores termofílicos.

Operação na gama termofílica

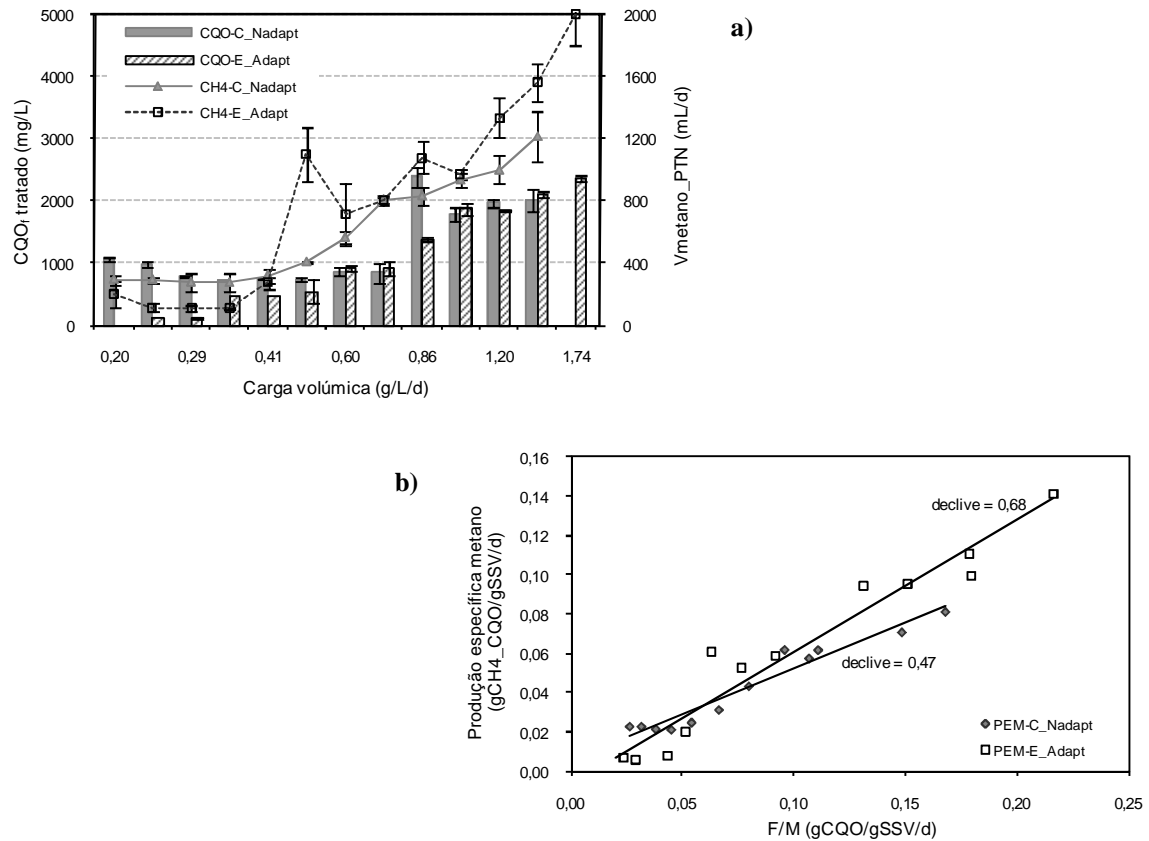


Gráfico 4-8 Valores de CQO_f do efluente tratado e da produção diária de metano em função da carga aplicada, gráfico a), e produção específica de metano em função de F/M , gráfico b), para $T = 55^\circ\text{C}$ e $TRH = 25\text{d}$. **Reactor C:** inóculo não adaptado; **Reactor E:** inóculo adaptado.

No que diz respeito ao CQO_f do efluente tratado pode verificar-se que as diferenças entre a operação de reactores com biomassa adaptada e não adaptada não são tão significativas como no caso da operação na gama mesofílica, notando-se a maior diferença nos dois reactores para cargas aplicadas inferiores a $1,00\text{gCQO/L/d}$. Para cargas superiores, o reactor inoculado com biomassa adaptada apresenta um desempenho claramente melhor no que se refere à produção de metano (Gráfico 4-8 a)). Talvez devido ao processo de aclimatização da biomassa adaptada não estar ainda completo, para as cargas mais baixas este reactor apresenta um desempenho inferior, tendo ocorrido uma grande acumulação de AOV nesse período (Gráfico 4-9). O aumento súbito do volume de metano na carga $0,50\text{gCQO/L/d}$ no caso do Reactor E pode ser explicado pela alteração da concentração de AOV_T que, como se pode verificar no Gráfico 4-9 e na Tabela III-5 do Anexo III, diminuiu

de 1720,5mgHAc/L (valor médio para a carga 0,41gCQO/L/d) para 300,4mgHAc/L (valor médio para a carga 0,50gCQO/L/d), que foi acompanhada por um aumento do teor em metano do biogás de 46% para 71%.

Embora o CQO_f do efluente tratado seja muito semelhante nos dois reactores para cargas mais elevadas, a produção de metano é superior no Reactor E (biomassa adaptada) pois, tal como se pode verificar no Gráfico 4-8 b), a produção de metano por CQO alimentado é superior: 0,68gCH₄_CQO/gCQO alimentado, em vez dos 0,47gCH₄_CQO/gCQO alimentado para o Reactor C. Isto poderá suceder porque no Reactor C, inoculado com biomassa não adaptada, ocorreram acumulações significativas de AOV para as cargas mais elevadas (Gráfico 4-9), ao contrário do que acontece com o Reactor E. No entanto, é no Reactor C que o teor em metano no biogás é superior: 59% em vez de 55% no Reactor E. A distribuição de cada ácido formado na operação destes dois reactores pode ser observada no Gráfico 4-9.

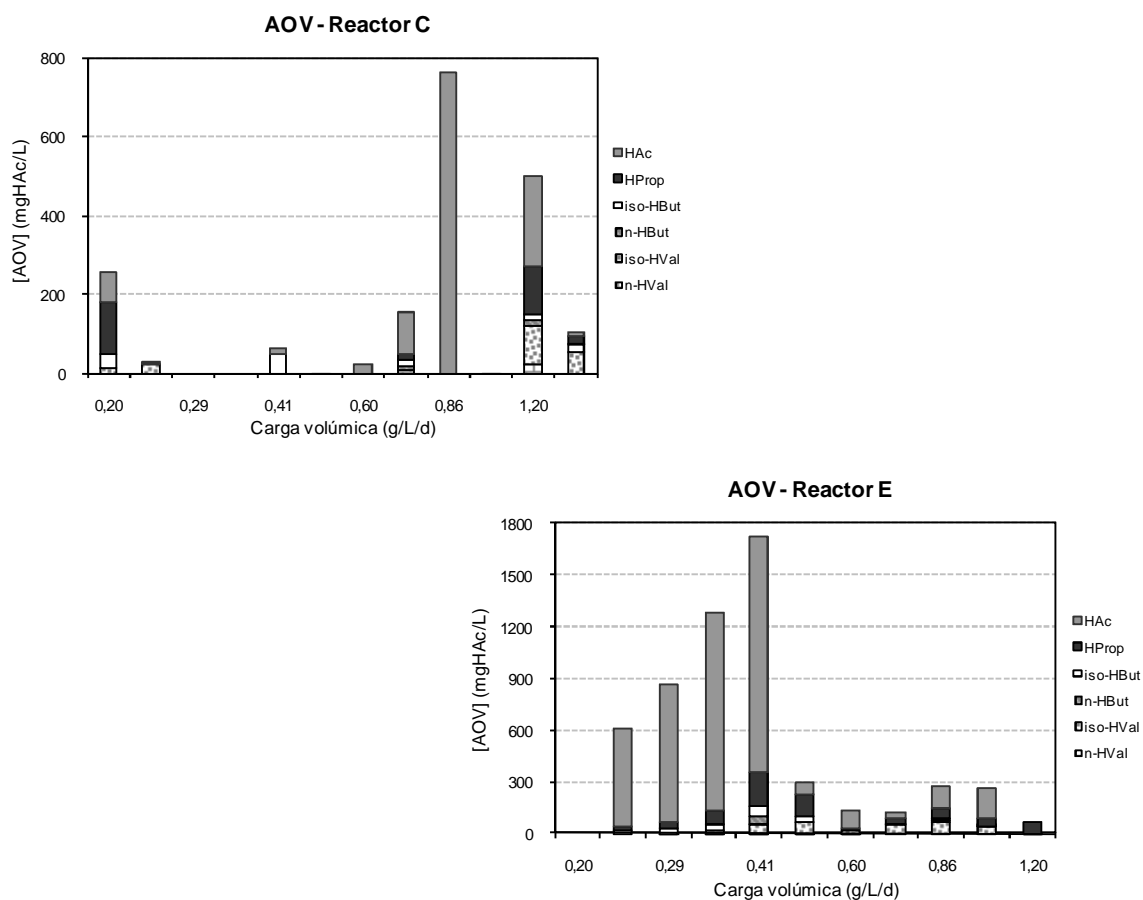


Gráfico 4-9 Distribuição dos AOV formados, para $T = 55^{\circ}\text{C}$ e $TRH = 25\text{d}$. **Reactor C:** inóculo não adaptado; **Reactor E:** inóculo adaptado.

O que o Gráfico 4-9 permite verificar é a prevalência do ácido acético sobre todos os outros ácidos formados, na grande maioria das cargas aplicadas aos dois reactores. No caso do Reactor C podem ver-se valores elevados de AOV para as cargas mais elevadas, enquanto no Reactor E apenas se verifica uma elevada acumulação de AOV no início da operação (cargas mais baixas) que, tal como já tinha sido referido, se deve provavelmente ao processo de aclimatização estar ainda incompleto. Pode ainda verificar-se a formação do ácido propiónico e *iso*-valérico em concentrações apreciáveis.

4.2.2 Efeito da temperatura de operação

i. Inóculo adaptado

A análise conjunta dos Gráficos 4-3 (Reactor A) e 4-7 (Reactor E) permite identificar diferenças significativas entre a operação na gama mesofílica e na gama termofílica: a 55°C a remoção de CQO e a produção de biogás são inferiores às obtidas a 37°C; na gama termofílica é também mais difícil atingir estados estacionários que caracterizem cada uma das condições operatórias, obtendo-se neste caso variações significativas de CQO_f do efluente tratado. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por alguns autores, como Song *et al* (2004). Estes autores puderam verificar que, tal como neste trabalho, o CQO e a concentração de AOV do efluente tratado são superiores no reactor termofílico, demonstrando que, em termos de qualidade do efluente tratado, o processo mesofílico é superior e mais estável do que o processo termofílico. Segundo estes autores, isto acontece porque alguns microrganismos termofílicos apresentam uma menor afinidade para com determinados substratos. Nos seus estudos, o processo termofílico usado no tratamento de lamas, quando comparado com o processo mesofílico, é caracterizado por uma redução de sólidos voláteis superior e por uma destruição de coliformes totais também superior.

A diferença entre a remoção de CQO e a sua conversão a biogás poderá estar relacionada com a acumulação de produtos intermediários, tais como os AOV. No Gráfico 4-10 é apresentada a percentagem de metano no biogás e o perfil de AOV para os dois reactores inoculados com biomassa adaptada: o Reactor A (mesofílico) e o Reactor E (termofílico). O facto de a produção de biogás ser ligeiramente inferior no reactor termofílico poderá

estar relacionado com uma possível inibição da sua produção devido a níveis elevados de amoníaco, que é produzido a partir da degradação das proteínas e cuja produção é favorecida em condições termofílicas.

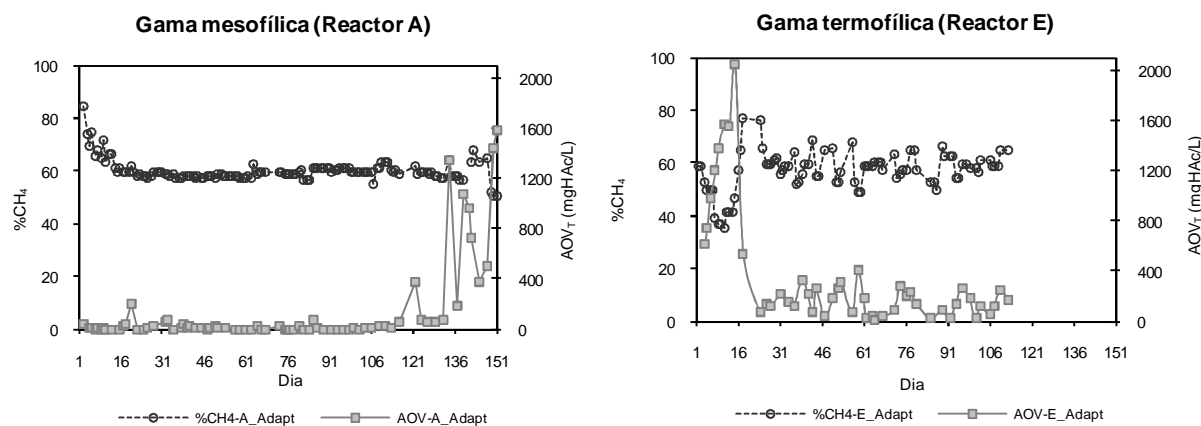


Gráfico 4-10 Teor em metano no biogás formado e perfil de acumulação de AOV nos reactores inoculados com biomassa adaptada, para TRH = 25d. **Reactor A:** 37°C; **Reactor E:** 55°C.

A análise do Gráfico 4-10 permite verificar que a acumulação de AOV apresenta um perfil muito diferente nos reactores mesofílico e termofílico. No primeiro (Reactor A), a concentração de AOV foi sempre muito baixa, com excepção na última carga aplicada (3,12gCQO/L/d), para a qual já não foi possível identificar um estado estacionário. Os ácidos que se acumularam em maior quantidade para as cargas mais baixas (inferiores a 2,60gCQO/L/d) foram as formas *n*- e *iso*- do ácido valérico e o ácido *n*-butírico. Na última carga (3,12gCQO/L/d) foram produzidos em quantidades muito mais elevadas os ácidos acético e propiónico. Este último é claramente o ácido mais difícil de degradar nas cargas mais elevadas, sendo o principal responsável pelo teor em AOV no efluente tratado na carga de 3,12gCQO/L/d. Por outro lado, no reactor termofílico (Reactor E) verifica-se uma elevada acumulação de AOV no período inicial de operação, correspondendo ao final da fase de aclimatização da biomassa aos 55°C (dados não mostrados nestes gráficos). Embora a concentração de AOV tenha diminuído para níveis não inibitórios nos primeiros 20 dias de operação, verificam-se flutuações deste parâmetro durante o decorrer da operação. Ao contrário do reactor mesofílico, o ácido volátil que mais se acumulou durante toda a operação do reactor foi o ácido acético, que atingiu um máximo de 1500mgHAc/L, seguido do ácido propiónico, que atingiu valores bastante mais baixos.

Estes resultados estão de acordo com alguns dos resultados obtidos por Wilson *et al* (2008). Estes autores também verificaram uma acumulação mais acentuada de AOV no reactor termofílico, embora o ácido que se tenha acumulado em maior quantidade tenha sido o ácido propiónico, ao contrário do registado neste trabalho. Esta diferença na acumulação de produtos intermediários (AOV) é normalmente reportada como sendo uma consequência da maior sensibilidade das metanogénicas acetoclásticas (que consomem o ácido acético para produzirem CH_4 e CO_2) a temperaturas elevadas.

Neste trabalho, também se verificaram diferenças significativas no teor em metano no biogás (em termos percentuais). No reactor mesofílico a % CH_4 mantém-se aproximadamente constante e igual a 62% durante todo o tempo de operação, com excepção dos primeiros 15 dias, onde é claramente superior. No reactor termofílico o teor em metano não é constante, verificando-se uma diminuição correspondente ao aumento de concentração de AOV, seguida de um aumento quando esta concentração diminui, tendo sido registados um mínimo de 37% e um máximo de 71% de CH_4 .

Uma explicação para a elevada concentração de AOV na fase inicial da operação do Reactor E (adaptada), pode prender-se com o facto de o tempo de aclimatização assumido para a temperatura termofílica não ter sido suficiente.

No Gráfico 4-11 são apresentados os resultados de estado estacionário para o CQO_f do efluente tratado e a produção de metano para os dois reactores.

Operação com inóculo adaptado

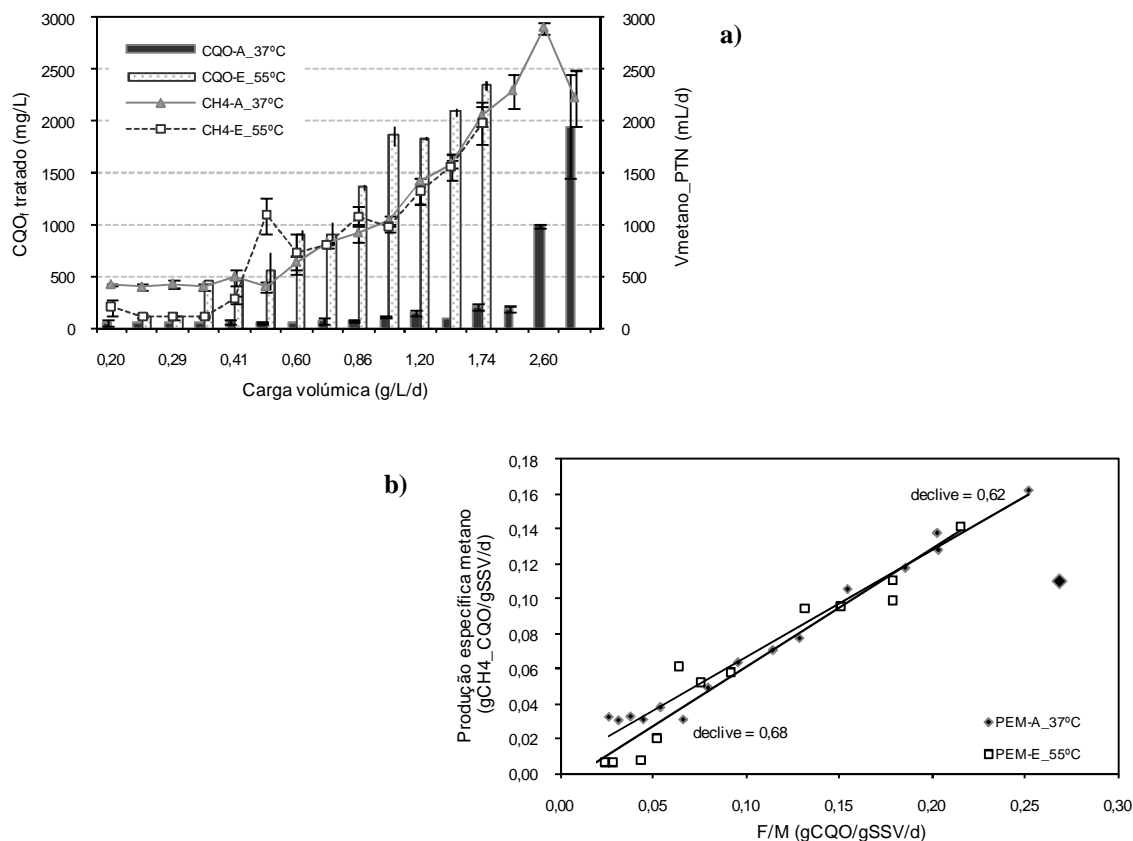


Gráfico 4-11 Valores de CQO_f do efluente tratado e da produção diária de metano em função da carga aplicada, gráfico a), e produção específica de metano em função de F/M, gráfico b), nos reactores inoculados com biomassa adaptada e TRH = 25d. **Reactor A:** 37°C; **Reactor E:** 55°C.

A produção de metano é semelhante nos dois reactores (mesofílico e termofílico) para cargas superiores a 0,50gCQO/L/d, tal como se pode verificar no gráfico anterior. A grande diferença de comportamento para estas cargas mais elevadas surge para a concentração de CQO_f do efluente tratado, que é sempre muito superior no reactor termofílico (cerca de 10 vezes). Uma possível explicação para esta concentração tão elevada parece residir no facto de ocorrer a morte da biomassa termofílica, pois foi necessário adicionar nova biomassa com alguma frequência, de modo a mantê-la o mais constante possível durante a operação deste reactor. De facto, sempre que os resultados são calculados por unidade de biomassa presente no reactor não se verificam tais diferenças. O teor em biomassa nos dois reactores é apresentado no Gráfico 4-12, onde são igualmente apresentados os períodos em que se adicionou (4 vezes) biomassa ao reactor termofílico e se retirou (2 vezes) biomassa em excesso do reactor mesofílico (períodos representados por linhas verticais a tracejado). No caso do reactor termofílico foi adicionada biomassa

aclimatizada proveniente de um reactor operado em paralelo e alimentado com o mesmo substrato.

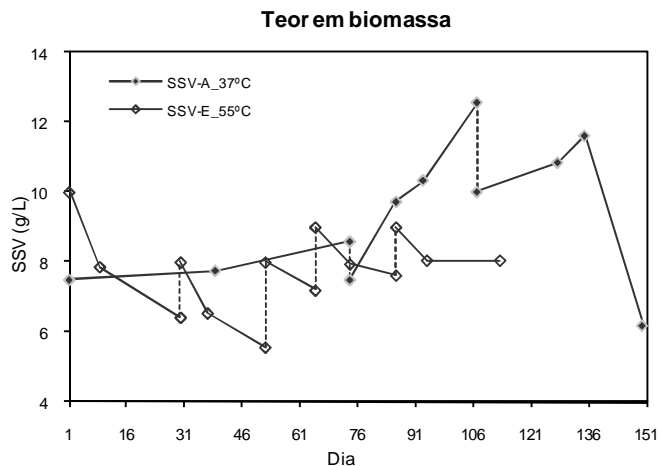


Gráfico 4-12 Evolução da concentração de biomassa adaptada nos Reactores A (mesofílico) e E (termofílico).

Como se verifica, no reactor mesofílico foi necessário retirar biomassa por duas vezes do reactor devido ao crescimento celular (dias 74 e 107); pelo contrário, no reactor termofílico foi necessário adicionar quatro vezes biomassa termofílica (dias 30, 52, 65 e 86), o que demonstra um comportamento muito diferente por parte dos microrganismos à temperatura mais elevada (gama termofílica). Este comportamento diferente a uma temperatura na gama termofílica foi também demonstrado por diversos autores nas últimas décadas. Nos seus estudos acerca do efeito da temperatura nas comunidades de bactérias e arqueobactérias, Levén et al (2007) demonstraram que, quanto mais elevada for a temperatura de operação, menos ricas em diversidade de microrganismos serão as comunidades microbiológicas mas que, apesar destas diferenças, os reactores apresentam comportamentos semelhantes, variando apenas na degradação de alguns compostos orgânicos muito específicos. Por seu lado, Lau e Fang (1997) concluíram que em reactores UASB termofílicos, tanto o aumento súbito de temperatura, como a sua diminuição, resultam numa diminuição da remoção de CQO e no *washout* de biomassa. Para além disso, estes autores verificaram que a actividade metanogénica é mais adversamente afectada por um aumento de temperatura do que por uma diminuição. Em outros estudos realizados na década de 80, referidos por estes autores, foi especulado que o aumento de temperatura aceleraria o decaimento dos microrganismos, resultando no *washout* da biomassa.

A diminuição acentuada da concentração de biomassa no Reactor A no fim da operação (carga mais elevada) está relacionada com o *washout* da biomassa que ocorria após cada alimentação diária, e que era provocado pela intensa produção de biogás, arrastando a biomassa para a linha gasosa. Este facto foi também descrito por van Lier *et al* (1996). Como não se conseguiu resolver este problema foi decidido cessar a operação deste reactor.

Apesar da concentração de CQO_f no efluente tratado se apresentar ainda muito elevada, superior a 500mg/L para cargas superiores a 0,50gCQO/L/d, verificaram-se percentagens de remoção de matéria orgânica muito boas: superiores a 97% no Reactor A e superiores a 93% no Reactor E. De facto, isto acontece em parte, porque as concentrações em CQO da alimentação são muito elevadas.

ii. Inóculo não adaptado

Tal como foi feito para o caso da biomassa adaptada, também neste caso se podem comparar reactores a operar em gamas de temperatura diferentes: Reactores B e C, ambos inoculados com biomassa não adaptada, o primeiro a operar a 37°C (Gráfico 4-3) e o segundo a 55°C (Gráfico 4-6). De modo análogo aos reactores inoculados com biomassa adaptada, as diferenças no comportamento destes são significativas. No reactor termofílico a remoção de CQO e a produção de biogás são inferiores às obtidas no reactor mesofílico, e a obtenção de um estado estacionário para este reactor, que caracterize cada uma das condições operatórias, é também mais difícil. Estes resultados estão igualmente de acordo com os resultados obtidos por Song *et al* (2004) apresentados no item anterior (inóculo adaptado). As produções de AOV e as percentagens de metano em cada um dos reactores são apresentadas no Gráfico 4-13.

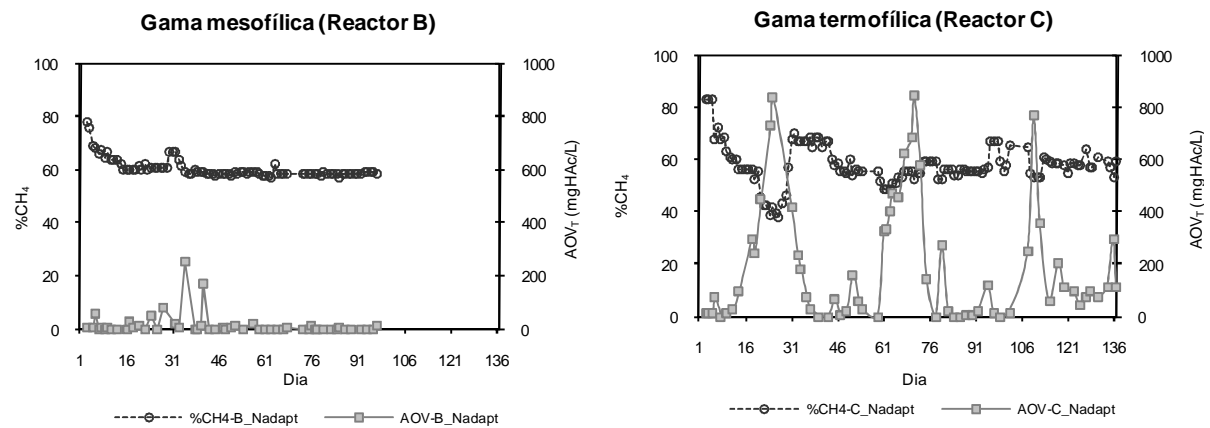


Gráfico 4-13 Teor em metano no biogás formado e perfil de acumulação de AOV nos reactores inoculados com biomassa não adaptada, para TRH = 25d. **Reactor B:** 37°C; **Reactor C:** 55°C.

Como se pode verificar, a operação na gama termofílica produz um efluente com concentrações de AOV bastante mais elevadas, verificando-se aumentos para valores de cerca de 800mgHAc/L, seguidos de decréscimos para valores maioritariamente inferiores a 100mgHAc/L. No Gráfico 4-14 são representadas a carga aplicada e a evolução do teor em AOV no efluente tratado para o Reactor C. O que pode verificar-se é que nos períodos onde foi aplicada a mesma carga durante mais tempo, registou-se uma pronunciada acumulação de AOV no reactor e que sempre que se aumentou a carga, essa concentração diminuiu para concentrações muito baixas.

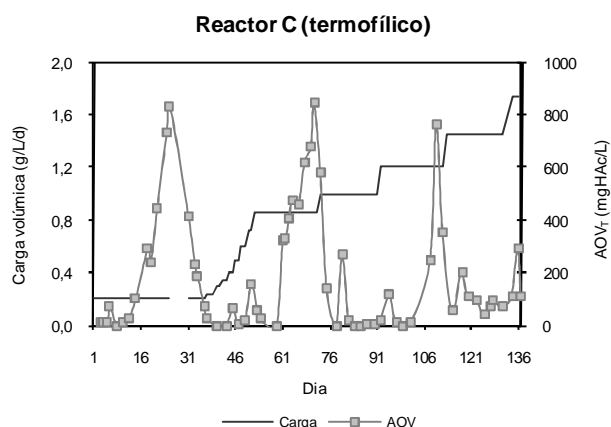


Gráfico 4-14 Evolução da concentração em AOV do efluente tratado consoante a carga aplicada durante a operação do Reactor C.

O que estes resultados poderão indicar é que a aplicação da mesma carga por longos períodos de tempo poderá não satisfazer as necessidades nutricionais da biomassa termofílica, uma vez que as velocidades de reacção nesta gama de temperatura são

superiores. Nestes casos, poderá ocorrer a morte celular por deficiência em alimento, provocando a deterioração da qualidade do efluente tratado. De facto, o teor em biomassa nos reactores mesofílico e termofílico (Gráfico 4-15) parece indicar exactamente o mesmo, tal como demonstrado para o inóculo adaptado (Gráfico 4-12): enquanto no reactor mesofílico foi necessário retirar biomassa em excesso (dia 74), no reactor termofílico foi necessário adicionar biomassa aclimatizada a 55°C (dias 60 e 72). Neste caso, também poderá ficar demonstrado que a comunidade de metanogénicas será a mais afectada pelo aumento de temperatura uma vez que se verifica uma acumulação de ácidos voláteis, em especial do ácido acético (Gráfico 4-9).

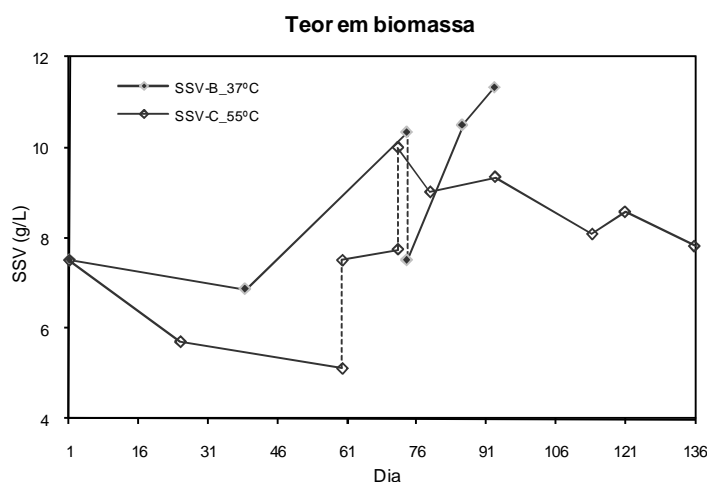


Gráfico 4-15 Evolução da concentração de biomassa não adaptada nos Reactores B (mesofílico) e C (termofílico).

No Gráfico 4-13 pode ainda verificar-se que a concentração máxima de AOV obtida no Reactor C, sensivelmente 840mgHAc/L, foi superior à obtida no Reactor E (Gráfico 4-10), onde essa concentração atingiu apenas um máximo de 412mgHAc/L (exclui-se o período inicial onde se considera que a fase de aclimatização ainda não estaria completa). Enquanto na gama mesofílica os ácidos que se acumulam em maior quantidade são os ácidos acético e *iso*-valérico (embora, ambos em concentrações muito baixas), no reactor termofílico o ácido que aparece em maior quantidade é o ácido acético seguido dos ácidos propiónico e *iso*-valérico.

Também no caso da biomassa não adaptada se verifica que o reactor termofílico apresenta uma %CH₄ no biogás muito variável com aumentos e diminuições correspondentes às diminuições e aumentos da concentração de AOV, respectivamente. No caso do reactor

mesofílico, o teor em metano é constante e igual a 62% durante quase todo o tempo de operação; no Reactor C esta percentagem atingiu valores entre 48% e 67%, podendo considerar-se um valor médio de 57% (excluindo o período inicial).

Operação com inóculo não adaptado

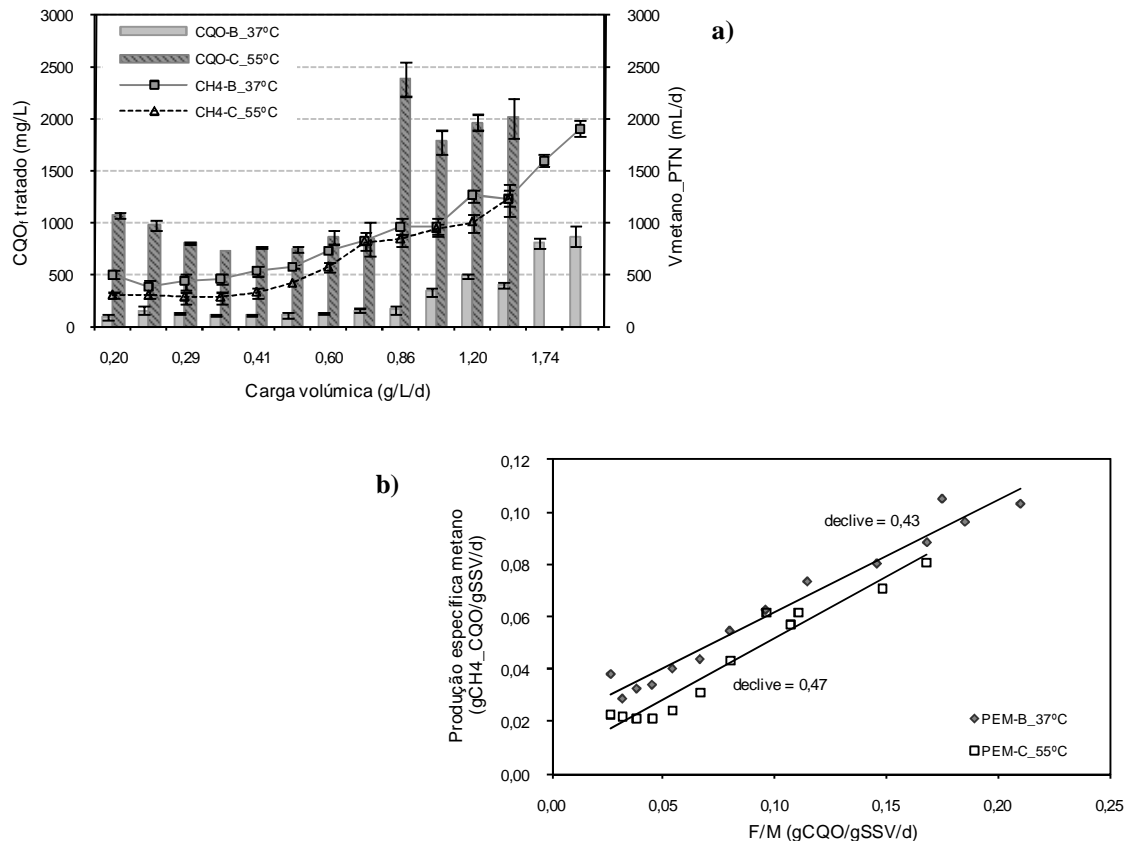


Gráfico 4-16 Valores de CQO_f do efluente tratado e da produção diária de metano em função da carga aplicada, gráfico a), e produção específica de metano em função de F/M, gráfico b), nos reactores inoculados com biomassa não adaptada e TRH = 25d. **Reactor B:** 37°C; **Reactor C:** 55°C.

O que o Gráfico 4-16 a) mostra é que o aumento da temperatura de operação para a gama termofílica deteriora a qualidade do efluente tratado. Enquanto no reactor mesofílico o CQO_f do efluente tratado atinge um máximo de 1000mg/L para a carga mais elevada, no reactor termofílico essa concentração é atingida em todas as condições para cargas inferiores a 0,86gCQO/L/d. O valor máximo de 2500mg/L foi obtido para a carga de 0,86gCQO/L/d. A produção de metano foi inferior no período inicial de operação para o reactor termofílico, o que poderá também estar relacionado com o facto de a aclimatização da biomassa não ter sido completa.

No Gráfico 4-16 b) pode ver-se que a produção específica de metano por unidade de CQO alimentado é semelhante nos reactores mesofílico e termofílico. Apesar do reactor mesofílico apresentar um aumento da produção específica de metano inferior com o aumento da carga ($0,43\text{gCH}_4\text{-CQO/gCQO}$ alimentado para o reactor mesofílico e $0,47\text{gCH}_4\text{-CQO/gCQO}$ alimentado para o reactor termofílico), apresenta para todas as cargas estudadas, uma produção específica de metano por unidade de biomassa mais elevada do que o reactor termofílico, indicando que este último reactor terá um rendimento em metano inferior. Estas diferenças tornam-se menos acentuadas com o aumento da carga aplicada, podendo significar que o processo de aclimatização da biomassa se vai completando com o decorrer da operação e que, desta forma, as diferenças na produção de metano para as duas temperaturas e para o inóculo não adaptado não são tão significativas.

Um dos parâmetros mais importantes que é necessário controlar no processo de digestão anaeróbia é o pH. Como foi referido no Capítulo 2, os microrganismos metanogénicos consomem os ácidos voláteis formados à mesma velocidade com que os microrganismos acidogénicos e acetogénicos os produzem. Se tal não acontecer poderá ocorrer a falha do sistema, por uma acidificação excessiva, por exemplo. De forma a prevenir-se uma eventual descida do valor de pH nos reactores anaeróbios, é comum adicionar-se alcalinidade para que seja mantida uma capacidade tampão no reactor. Neste trabalho foi adicionada alcalinidade na forma de NaHCO_3 , como foi descrito no Capítulo 3.

Os valores de pH e da alcalinidade para os Reactores A, B, C e E estão expressos nos Gráficos 4-17 e 4-18.

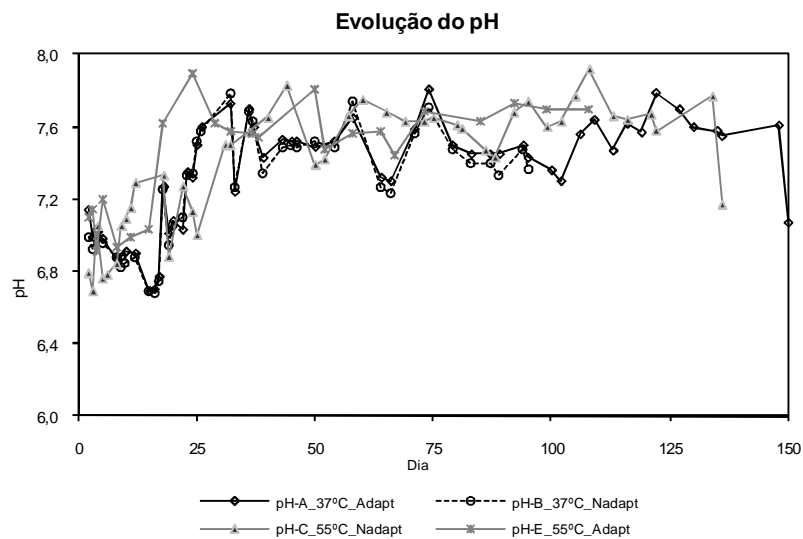


Gráfico 4-17 Evolução do pH no decorrer de toda a operação dos reactores.

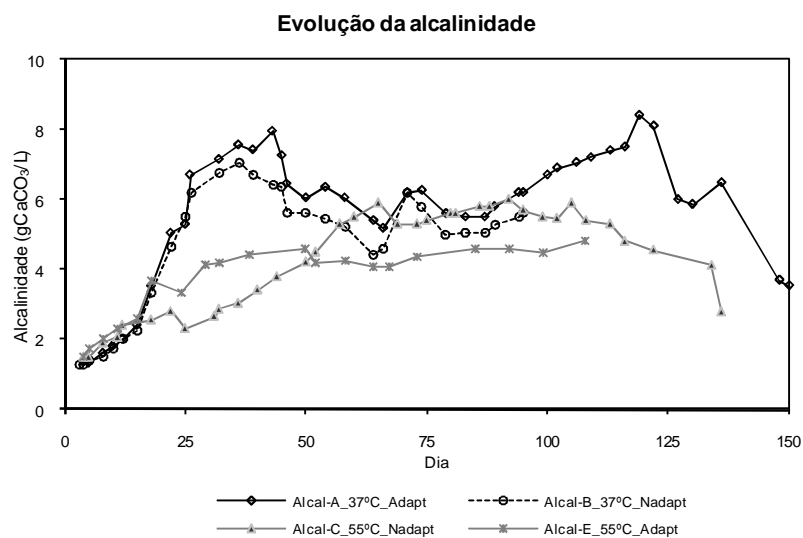


Gráfico 4-18 Evolução da alcalinidade no decorrer de toda a operação dos reactores.

Como se pode verificar no Gráfico 4-17, o valor de pH manteve-se maioritariamente nos níveis desejados em todos os 4 reactores. Apenas na fase inicial de operação se registaram valores mais baixos, perto dos 6,60, período igualmente acompanhado por uma baixa alcalinidade, sensivelmente à volta dos $1,2\text{gCaCO}_3/\text{L}$ (Gráfico 4-18). No entanto, com a adição de alcalinidade pode verificar-se que os valores de pH se restabeleceram e estabilizaram em valores óptimos ao funcionamento das comunidades microbiológicas. Para os Reactores A e C podem verificar-se descidas dos valores de pH e de alcalinidade

para as cargas aplicadas mais elevadas, que correspondem aos períodos em que ocorreu uma maior acumulação de AOV.

Pode ainda verificar-se que o pH dos reactores termofílicos se mantém quase sempre superior ao pH dos reactores mesofílicos (embora, contraditoriamente, a alcalinidade se mantenha mais baixa). Isto pode dever-se ao facto de a degradação dos compostos de azoto ser favorecida em condições termofílicas, provocando um aumento de pH, tal como Song *et al* (2004) relataram no seu estudo. O favorecimento da degradação dos compostos de azoto já foi aqui relatada como uma possível causa para a diminuição da produção de biogás em condições termofílicas (ponto 4.2.2 *i*)). A alcalinidade pode ser produzida na degradação de compostos de azoto, redução de sulfatos, libertação de ortofosfatos e aumento da concentração de ácidos orgânicos voláteis (Song *et al*, 2004).

4.2.3 Efeito do TRH

Para verificar o efeito do TRH no comportamento dos reactores foi feito o arranque de um reactor mesofílico - Reactor D, inoculado com biomassa adaptada, mas a operar com um TRH de 10d. A diminuição do TRH não foi uma tarefa fácil, dado ser necessário retirar um volume maior de efluente tratado (500mL) e adicionar uma alimentação de igual volume. De facto, a extracção de 500mL de sobrenadante veio a demonstrar ser uma tarefa que exigia algum cuidado e paciência devido à depressão criada dentro do reactor.

A decisão de se operar um reactor com um tempo de retenção mais baixo prendeu-se com o facto de que quanto maior for o tempo de retenção hidráulico menor será a quantidade efluente a tratar para um dado tamanho do reactor. Neste sentido, e em casos extremos, poderá ser inviabilizado o tratamento de elevados volumes de efluente com tempos de retenção elevados, devido à necessidade de construção de reactores com uma capacidade muito grande.

No Gráfico 4-19 é representado o efeito do aumento da carga orgânica volúmica aplicada, no Reactor D mesofílico inoculado com biomassa adaptada e a operar com um TRH = 10d, na qualidade do efluente tratado e na quantidade de biogás produzido.

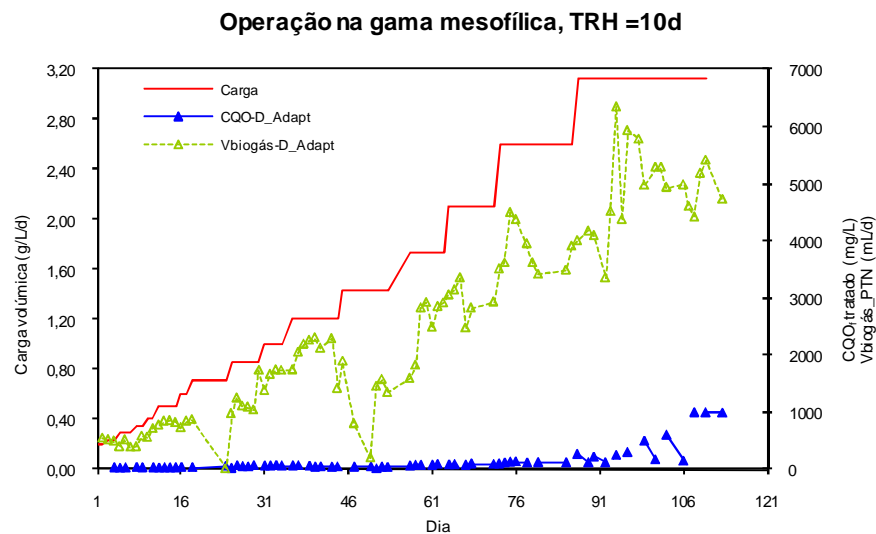


Gráfico 4-19 Evolução do CQO_f do efluente tratado e da produção de biogás (em condições PTN) com o aumento de carga orgânica volumica, para $T = 37^\circ\text{C}$ e inóculo adaptado. **Reactor D:** TRH = 10d.

Os resultados da operação deste reator são comparados com os resultados obtidos durante a operação do Reactor A mesofílico, também inoculado com biomassa adaptada mas a operar com um TRH = 25d (os resultados deste reator foram apresentados no Gráfico 4-3). A análise dos Gráficos 4-3 e 4-19 permite verificar algumas semelhanças entre a operação destes dois reactores a operar com tempos de retenção hidráulico diferentes. As semelhanças são notórias na remoção de CQO, especificamente para as cargas aplicadas mais baixas, conforme se pode ver no Gráfico 4-20. Pode dizer-se que só se verificam diferenças significativas na concentração de CQO do efluente tratado nas duas cargas aplicadas mais elevadas (2,60 e 3,12gCQO/L/d). A bio-transformação do CQO a biogás é também muito semelhante para as cargas mais baixas, verificando-se apenas uma menor produção de biogás para as cargas mais elevadas no reator com menor TRH.

Operação com inóculo adaptado, diferentes TRH

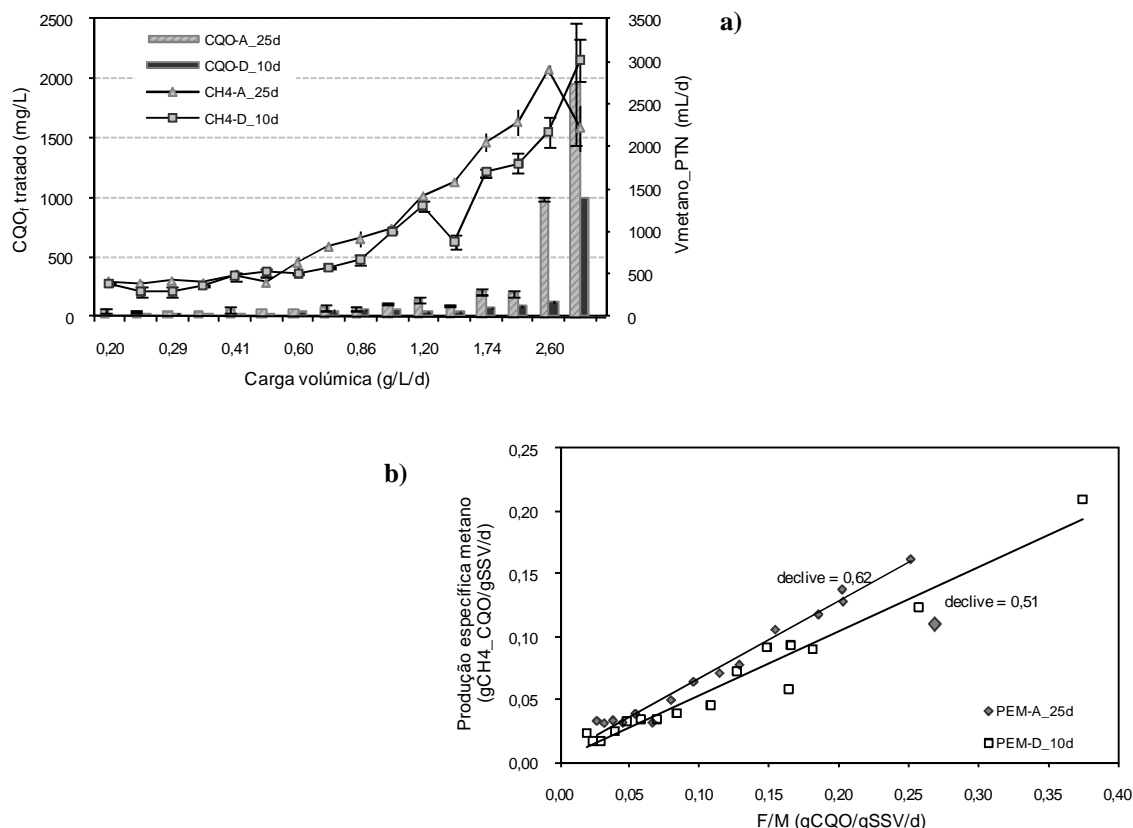


Gráfico 4-20 Valores de CQO_f do efluente tratado e de produção diária de metano em função da carga aplicada, gráfico a), e produção específica de metano em função de F/M, gráfico b), nos reactores inoculados com biomassa adaptada e T = 37°C. **Reactor A:** 25d; **Reactor D:** 10d.

O comportamento em termos de remoção de CQO é assim muito semelhante nos dois reactores, especialmente nas cargas mais baixas, onde também não se verificaram diferenças na produção de metano. O efeito da diminuição do tempo de retenção hidráulico só se fez sentir nas cargas mais elevadas, onde há uma diminuição do volume de metano produzido. O CQO_f do efluente tratado manteve-se no entanto, significativamente inferior, provavelmente por o CQO da alimentação ser também bastante inferior. Ao contrário do que tinha acontecido com o Reactor A, no Reactor D não ocorreu *washout* da biomassa, podendo isto dever-se também ao facto de a alimentação apresentar um CQO inferior, embora a carga aplicada fosse igual (ver Anexo III). Este facto provocou uma produção de biogás “instantânea” mais baixa, não provocando o arrastamento da biomassa para a linha gasosa. Assim, no Reactor D verificou-se um aumento da produção de biogás para a última carga (que foi possível quantificar), enquanto no Reactor A já não foi possível fazer essa quantificação correctamente, tal como já tinha sido referido anteriormente.

No Gráfico 4-20 b) pode confirmar-se que nas cargas mais baixas a produção de metano é muito semelhante nos dois reactores. Com o aumento da carga o rendimento em metano vai diminuindo no Reactor com menor TRH, por diminuição do volume de biogás formado, uma vez que a percentagem de metano é semelhante e de 62% nos dois reactores (média de todo o tempo de operação). A diminuição da produção de metano com a diminuição do TRH foi igualmente relatada por Nadais *et al* (2005) nos seus estudos utilizando leite meio-gordo. No entanto, os seus resultados relativos à remoção de CQO indicam uma maior percentagem de remoção CQO com o aumento do TRH, contrariamente ao obtido neste trabalho. Isto acontecerá devido aos valores mais elevados do CQO da alimentação utilizados neste trabalho.

Apesar da diminuição do TRH para menos de metade em relação ao Reactor A, também no Reactor D não se verificou uma acumulação de ácidos voláteis que colocasse em causa o bom funcionamento do reactor. Apenas há a registar um aumento até cerca 571,5mgHAc/L, em média, para a carga de 1,74gCQO/L/d (Gráfico 4-21), tendo sido obtido um máximo de 1651,2mgHAc/L/d para a mesma carga durante o tempo de operação. Os ácidos que mais contribuíram para estes aumentos foram o ácido acético e o ácido propiónico que, no caso do Reactor A, apenas registaram valores significativos de concentração na última carga aplicada, naquela que conduziu à falha de todo o sistema. Tal como no primeiro reactor, também no Reactor D se verificou a presença do ácido *iso*-valérico em muitas das cargas aplicadas.

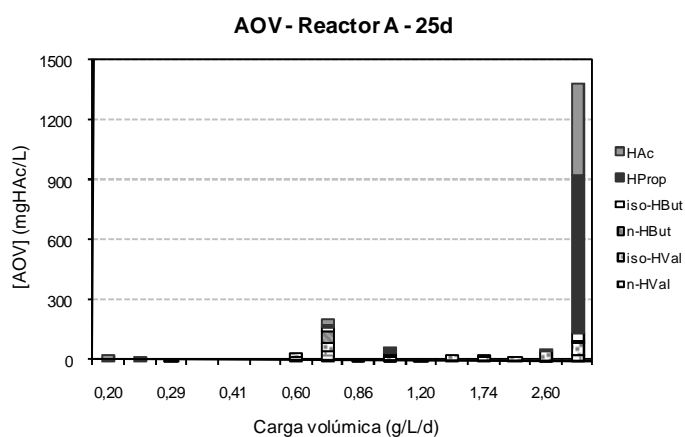
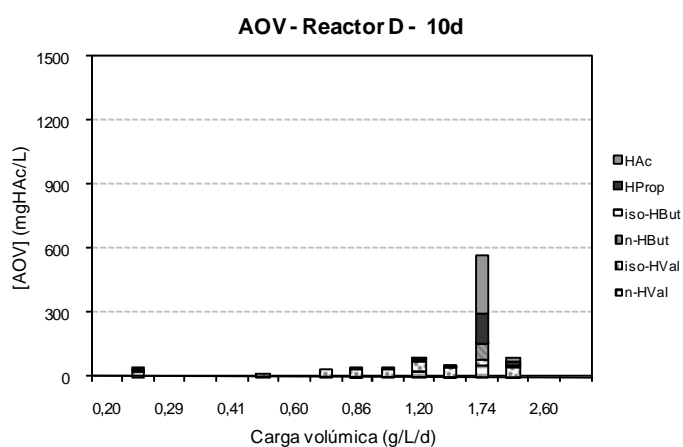


Gráfico 4-21 Distribuição dos AOV formados, para $T = 37^{\circ}\text{C}$ e inóculo adaptado. **Reactor A:** TRH = 25d; **Reactor D:** TRH = 10d.



Em termos quantitativos, estes resultados são, em grande parte, semelhantes aos obtidos por Demirel e Yenigün (2006) nos seus estudos sobre as populações microbianas responsáveis pela digestão anaeróbia. Estes autores concluíram que a produção de AOV aumenta com o aumento da C_v aplicada, o que vai de encontro aos resultados obtidos neste trabalho. Para além disso, também puderam verificar que a concentração de AOV aumenta com a diminuição do TRH, o que também foi verificado neste trabalho para a carga de $1,74\text{gCQO/L/d}$. Qualitativamente, Demirel e Yenigün (2006) obtiveram maioritariamente como produtos da acidogénese, os ácidos acético, propiónico, butírico e valérico, o que é similar com o obtido ao longo de todo este trabalho experimental.

5 CONCLUSÕES PERSPECTIVAS FUTURAS

O principal objectivo deste trabalho experimental foi avaliar o comportamento de reactores anaeróbios sequenciais (SBR) quando são alimentados com um efluente complexo proveniente de uma indústria de lacticínios. Neste trabalho foi utilizado um efluente sintético, constituído por leite meio-gordo suplementado com micro e macro-nutrientes e alcalinidade.

Como objectivos mais específicos foram estudados os efeitos, no comportamento dos reactores, dos seguintes parâmetros: temperatura de operação (37°C e 55°C); tipo de biomassa a utilizar para inoculação dos reactores (biomassa adaptada a substratos complexos contendo gordura e biomassa não adaptada); tempo de retenção hidráulico (TRH de 25d e 10d); e carga orgânica volúmica (Cv) aplicada.

Os resultados obtidos apontam para uma grande potencialidade da utilização de reactores SBR anaeróbios no tratamento deste tipo de efluentes contendo substratos complexos com pouca biodegradabilidade, como é o caso das gorduras. Os reactores mesofílicos foram operados até uma carga máxima de 3,12gCQO/L/d, enquanto os reactores termofílicos foram operados apenas até uma carga máxima de 1,74gCQO/L/d, dado ter sido mais difícil e moroso a obtenção de estados estacionários para cada condição imposta.

Os reactores SBR anaeróbios foram operados com ciclos de 24h, em que o tempo de sedimentação foi de 2h. Da operação destes reactores podem retirar-se as seguintes conclusões:

- A temperatura é um parâmetro que influencia muito a qualidade do efluente tratado. Quer para o inóculo adaptado quer para o não adaptado, verifica-se uma deterioração muito grande da qualidade do efluente tratado quando se opera na gama termofílica, independentemente da carga orgânica aplicada.
- Na gama mesofílica obtiveram-se eficiências de remoção superiores a 97% para todas as cargas aplicadas, independentemente do tipo de inóculo utilizado e do TRH aplicado.
- Na gama termofílica obtiveram-se eficiências de remoção superiores a 93% para o inóculo adaptado, e superior a 79% para o inóculo não adaptado.
- A adaptação do inóculo a substratos complexos, como é o caso de efluentes de indústrias de lacticínios, é também um dos parâmetros que influencia o funcionamento dos reactores, verificando-se que o inóculo adaptado a este tipo de substratos complexos apresenta um melhor comportamento no que diz respeito à qualidade do efluente tratado e à produção de metano.
- Na gama mesofílica e para as cargas aplicadas mais baixas, os inóculos adaptado e não adaptado produzem um efluente tratado com um CQO_f e uma transformação em biogás muito similares. No entanto, a partir da carga 1,0gCQO/L/d os comportamentos começam a distanciar-se, com o reactor inoculado com biomassa adaptada a produzir um efluente tratado com uma qualidade em termos de CQO_f cerca de 4 vezes superior e uma produção em metano de cerca de 20 a 30% também superior.
- Ao contrário do que acontece na gama mesofílica, na gama termofílica o CQO_f do efluente tratado é muito similar para ambos os tipos de biomassa nas cargas aplicadas mais elevadas. Para as cargas baixas, o inóculo adaptado produz um efluente tratado com uma qualidade superior (CQO_f mais baixo), embora a produção de metano seja mais baixa.
- Nos reactores mesofílicos, o teor de CH_4 no biogás estabiliza à volta dos 60% para todas as cargas aplicadas, enquanto nos reactores termofílicos se verificam oscilações entre os 37% e os 71%, a que correspondem períodos de acumulação de ácidos orgânicos voláteis (AOV).
- A temperatura é também um parâmetro muito importante no controlo do crescimento da biomassa. Nos reactores mesofílicos foi necessário retirar biomassa

para manter a quantidade pré-definida no reactor enquanto nos reactores termofílicos houve a necessidade de se re-inocularem os reactores por diversas vezes. Este comportamento denota um maior decaimento da biomassa termofílica, tendo sido idêntico tanto para a biomassa adaptada como para a não adaptada.

- A monitorização da produção de metano permitiu também verificar a elevada discrepância entre a remoção de CQO e a produção de metano. Esta discrepância é mais significativa no caso de reactores termofílicos, onde se verificou uma maior acumulação de compostos intermediários (AOV). O grau de metanização variou muito com a condição operatória imposta, tendo no entanto sido sempre superior a 21% do CQO removido. Os valores mais baixos foram registados nos reactores termofílicos.
- Na gama mesofílica e para o inóculo adaptado, a diminuição do TRH de 25 para 10 dias não provocou alterações na percentagem de remoção de CQO, mas levou a uma menor produção de biogás e a uma menor percentagem de metanização.

A operação continuada de reactores SBR anaeróbios em condições operatórias diferentes permitiu verificar diferenças significativas do efluente tratado, não só ao nível das suas características físico-químicas mas também na cor, cheiro e turvação, principalmente quando se comparam os resultados obtidos na gama mesofílica e na termofílica. Estes resultados apontam para uma alteração profunda das características e da composição da população microbiana durante a aclimatização da biomassa a uma temperatura na gama termofílica. Como proposta para um trabalho futuro sugere-se a identificação e o estudo dos grupos de microrganismos dominantes na degradação deste tipo de substrato nas duas gamas de temperatura, na tentativa de se esclarecer a diferença de comportamentos dos reactores mesofílicos e termofílicos.

A ocorrência de *washout* da biomassa nos reactores mesofílicos operados às cargas mais elevadas resultou maioritariamente de uma produção instantânea de biogás bastante elevada após a alimentação do reactor, o que levou ao arrastamento da biomassa para a tubagem de gás. Verificou-se ainda uma acumulação de gorduras no manto de lamas (os sólidos ficaram com uma cor esbranquiçada) e de produtos intermediários (AOV), o que provocou posteriormente a acidificação e a falha do processo. Neste caso, a paragem da

alimentação não é a única solução para operar este tipo de reactores a estas cargas. Assim, sugere-se para trabalhos futuros a operação de reactores SBR a estas cargas diárias elevadas (igual quantidade de CQO alimentada por dia), mas acompanhada da diminuição do tempo de ciclo, o que atenuaria a produção instantânea e excessiva de biogás (com o consequente arrastamento da biomassa) e a acumulação rápida de produtos intermediários (AOV). Poder-se-ia assim verificar se a distribuição da alimentação diária por ciclos mais pequenos favoreceria o processo, não provocando a acidificação e a falha do processo de tratamento.

Embora a qualidade do efluente tratado dos reactores termofílicos seja muito inferior à dos reactores mesofílicos, ficou por apurar o comportamento dos reactores termofílicos perante cargas aplicadas tão elevadas como as aplicadas nos reactores mesofílicos. Assim, não se sabe o comportamento dos reactores termofílicos ao nível, por exemplo, da produção de espumas e da ocorrência de *washout*.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ammary, Bashaar Y. (2005) *Treatment of olive mill wastewater using an anaerobic sequencing batch reactor*. Desalination, 177, 157-165.
- Angenent, Largus T., Dague, Richard R. (1995) *A laboratory-scale comparison of the UASB and ASBR process*. 50th Purdue Industrial Waste Conference Proceedings, Ann Arbor Press, Inc, Chelsea, Michigan 48118, 365-377.
- Azbar, Nuri, Ursillo, Pepi, Speece, Richard E. (2001) *Effect of process configuration and substrate complexity on the performance of anaerobic processes*. Water Research, 35 (3), 817-829.
- Bing, LI, Ying-lan, SUN, Yu-ying, LI (2005) *Pretreatment of coking wastewater using anaerobic sequencing batch reactor (ASBR)*. Journal of Zhejiang University Science, 6B (11), 1115-1123.
- Bocher, Benjamim T., Agler, Matthew T, Garcia, Marcelo L., Beers, Allen R., Angenent, Largus T. (2008) *Anaerobic digestion of secondary residuals from a anaerobic bioreactor at a brewery to enhance bioenergy generation*. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 35 (5), 321-329.
- Boušková, A., Dohányos, M., Schmidt, J. E., Angelidaki, I. (2005) *Strategies for changing temperature from mesophilic to thermophilic conditions in anaerobic CSTR reactors treating sewage sludge*. Water Research, 39, 1481-1488.
- Cammarota, M. C., Freire, D. M. G. (2006) *A review on hydrolytic enzymes in the treatment of wastewater with high oil and grease content*. Bioresource Technology, 97, 2195-2210.
- Cassidy, D. P., Hirl, P. J., Belia, E. (2008) *Methane production from ethanol co-products in anaerobic SBRs*. Water Science and Technology, 58 (4), 789-793.
- Chen, M. (1983) *Adaptation of mesophilic anaerobic sewage fermentor population to thermophilic temperatures*. Applied and Environmental Microbiology, 45 (4), 1271-1276.

- Cheong, Dae-Yeol, Hansen, Conly L. **(2008)** *Effect of feeding strategy on the stability of anaerobic sequencing batch responses to organic loading conditions*. Bioresource Technology, 99, 5058-5068.
- Dague, R. R., Habben, C. E., Pidaparti, S. R. **(1992)** *Initial studies on the anaerobic sequencing batch reactor*. Water Science and Technology, 26 (9-11), 2429-2432.
- Danalewich, J. R., Papagiannis, T.G., Belyea, R. L., Tumbleson, M. E., Raskin, L. **(1998)** *Characterization of dairy waste streams, current, treatment practices and potential for biological nutrient removal*. Water Research, 32 (12), 3555-3568.
- Demirel, Burak, Scherer, Paul **(2008)** *The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: a review*. Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 7 (2), 173-190.
- Demirel, Burak, Yenigün, Orhan **(2006)** *Changes in microbial ecology in an anaerobic reactor*. Bioresource Technology, 97, 1201-1208.
- Demirel, Burak, Yenigun, Orhan, Onay, Turgut T. **(2005)** *Anaerobic treatment of dairy wastewaters: a review*. Process Biochemistry, 40, 2583-2595.
- Dinsdale, Richard M., Hawkes, Freda R., Hawkes, Dennis L. **(1997)** *Comparison of mesophilic and thermophilic upflow anaerobic sludge blanket reactors treating instant coffee production wastewater*. Water Research, 31 (1), 163-169.
- Dugba, Prince N., Zhang, Ruihong **(1999)** *Treatment of dairy wastewater with two-stage anaerobic sequencing batch reactor systems – thermophilic versus mesophilic operations*. Bioresource Technology, 68, 225-233.
- Eaton, Andrew D., Clesceri, Lenore S., Rice, Eugene W., Greenberg, Arnold E. **(2005)** *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21st edition (Centennial Edition), APHA, AWWA, WEF, Washington, DC.
- El-Hadj, T. Benabdallah, Dosta, J., Mata-Álvarez, J. **(2007)** *Start-up and HRT Influence in Thermophilic and Mesophilic Anaerobic Digesters Seeded with Waste Activated Sludge*. Chemical and Biochemical Engineering Quarterly, 21 (2), 145-150.
- European Commission **(2006)** *Integrated Pollution Prevention and Control - Reference Document on Best Available Techniques in the Food, Drink and Milk Industries*.
- Gannoun, Hana, Othman, Nada Ben, Bouallagui, Hassib, Moktar, Hamdi **(2007)** *Mesophilic and Thermophilic Anaerobic Co-digestion of Olive Mill Wastewaters and Abattoir Wastewaters in an Upflow Anaerobic Filter*. Industrial & Engineering Chemistry Research, 46 (21), 6737-6743.

- Göblös, Sz., Portörő, P., Bordás, D., Kálmán, M., Kiss, I. (2008) *Comparison of the effectivities of two-phase and single-phase anaerobic sequencing batch reactors during dairy wastewater treatment*. Renewable Energy, 33, 960-965.
- Haridas, Ajit, Suresh, S., Chitra, K. R., Manilal, V. B. (2005) *The Buoyant Filter Bioreactor: a high-rate anaerobic reactor for complex wastewater – process dynamics with dairy effluent*. Water Research, 39, 993-1004.
- Hatamoto, Masashi, Imachi, Hiroyuki, Ohashi, Akiyoshi, Harada, Hideki (2007) *Identification and Cultivation of Anaerobic, Syntrophic Long-Chain Fatty Acid-Degrading Microbes from Mesophilic and Thermophilic Methanogenic Sludges*. Applied and Environmental Microbiology, 73 (4), 1332-1340.
- Hori, Tomoyuki, Haruta, Shin, Ueno, Yoshiyuki, Ishii, Masaharu, Igarashi, Yasuo (2006) *Dynamic Transition of a Methanogenic Population in Response to the Concentration of Volatile Fatty Acids in a Thermophilic Anaerobic Digester*. Applied and Environmental Microbiology, 72 (2), 1623-1630.
- Ince, O. (1998) *Performance of a two-phase anaerobic digestion system when treating dairy wastewater*. Water Research, 32 (9), 2707-2713.
- INE - Instituto Nacional de Estatística. Boletins Mensais da Agricultura, Pescas e Agro - indústria. ISSN - 1645 - 2690.
- Itoh, Takashi (2003) *Taxonomy of Nonmethanogenic Hyperthermophilic and Related Thermophilic Archaea*. Journal of Bioscience and Bioengineering, 96 (3), 203-212.
- Kim, Moonil, Ahn, Young-Ho, Speece, R. E. (2002) *Comparative process stability and efficiency of anaerobic digestion; mesophilic vs. thermophilic*. Water Research, 36, 4369-4385.
- Lee, J. G., Hur, J. M., Chang, D., Chung, T. H. (2001) *Performance characterization of anaerobic sequencing batch reactor process for digestion of night soil*. Water Science and Technology, 43 (1), 27-34.
- Levén, Lotta, Eriksson, Anders R. B., Schnürer, Anna (2007) *Effect of process temperature on bacterial and archaeal communities in two methanogenic bioreactors treating organic household waste*. FEMS Microbiology Ecology, 59 (3), 683-693.
- Li, Pengjie, Mulligan, N. (2005) *Anaerobic Treatment of Waste Beer*. Environmental Progress, 24 (1), 88-95.
- Massé, Daniel I., Masse, Lucie (2001) *The effect of temperature on slaughterhouse wastewater in anaerobic sequencing batch reactors*. Bioresource Technology, 76, 91-98.

- McCarty, P. L., Mosey, F. E. (1991) *Modelling of anaerobic digestion processes (a discussion of concepts)*. Water Science and Technology, 24 (8), 17-33.
- McHugh, Sharon, Collins, Gavin, O'Flaherty, Vincent (2006) *Long-term, high-rate anaerobic biological treatment of whey wastewaters at psychrophilic temperatures*. Bioresource Technology, 97, 1669-1678.
- Metcalf & Eddy (2003) *Wastewater Engineering - Treatment and Reuse*. 3rd edition, McGraw-Hill, New York.
- Mockaitis, Gustavo, Ratusznei, Suzana M., Rodrigues, José A. D., Zaiat, Marcelo, Foresti, Eugénio. (2006) *Anaerobic whey treatment by a stirred sequencing batch reactor (ASBR): effects of organic loading and supplemented alkalinity*. Journal of Environmental Management, 79, 198-206.
- Mohan, S. Venkata, Babu, V. Lalit, Sarma, P. N. (2007) *Anaerobic biohydrogen production from dairy wastewater treatment in sequencing batch reactor (AnSBR): Effect of organic loading rate*. Enzyme and Microbial Technology, 41, 506-515.
- Mohan, S. Venkata, Rao, N. Chandrasekhara, Prasad, K. Krishna, Krishna, P. Murali, Rao, R. Sreenivas, Sarma, P. N. (2005) *Anaerobic treatment of complex chemical wastewater in a sequencing batch biofilm reactor: process optimization and evaluation of factor interactions using the Taguchi Dynamic DOE Methodology*. Biotechnology and Bioengineering, 90 (6), 732-745.
- Montero, B., Garcia-Morales, J. L., Sales, D., Solera, R. (2008) *Evolution of microorganisms in the thermophilic-dry anaerobic digestion*. Bioresource Technology, 99, 3233-3243.
- Nadaís, H., Capela, I., Arroja, L., Duarte, A. (2005) *Treatment of dairy wastewater in UASB reactors inoculated with flocculent biomass*. Water SA, 31 (4), 603-607.
- Nadaís, M. Helena (2001). *Tratamento de efluentes de indústrias de laticínios em reactores UASB com funcionamento intermitente*. Tese de Doutoramento, Universidade de Aveiro.
- Ndegwa, P. M., Hamilton, D. W., Lalman, J. A., Cumba, H. J. (2008) *Effects of cycle-frequency and temperature on the performance of anaerobic sequencing batch reactors (ASBRs) treating swine waste*. Bioresource Technology, 99, 1972-1980.
- Ndon, Udeme J., Dague, Richard R. (1997) *Effects of temperature and hydraulic retention time on anaerobic sequencing batch reactor treatment of low-strength wastewater*. Water Research, 31 (10), 2455-2466.
- Nelson, David L., Cox, Michael M. (2004) *Lehninger - Principles of Biochemistry*. 4th edition, W. H. Freeman, New York.

- O'Flaherty, Vincent, Collins, Gavin, Mahony, Thérèse (2006) *The microbiology and biochemistry of anaerobic bioreactors with relevance to domestic sewage treatment*. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 5, 39-55.
- Pavlostathis, S., Giraldo-Gomez, E. (1991) *Kinetics of anaerobic treatment*. Water Science and Technology, 24 (8), 35-59.
- Pereira, M. A., Cavaleiro, A. J., Mota, M., Alves, M. M. (2003) *Accumulation of long chain fatty acids onto anaerobic sludge under steady state and shock loading conditions: effect on acetogenic and methanogenic activity*. Water Science and Technology, 48 (6), 33-40.
- Pereira, M. A., Mota, M., Alves, M. M. (2002) *Operation of an anaerobic filter and an EGSB reactor for the treatment of an oleic acid-based effluent: influence of inoculum quality*. Process Biochemistry, 37, 1025-1031.
- Petruy, R., Lettinga, G. (1997) *Digestion of a milk-fat emulsion*. Bioresource Technology, 61, 141-149.
- Qasim, Syed R. (1999) *Wastewater treatment plant - Planning, design, and operation*. 2nd edition, Technomic Publishing Company, Inc., U.S.A.
- Quintas, Alexandre, Freire, Ana Ponces, Halpern, Manuel J. (2008) *Bioqímica - Organização molecular da vida*. Lidel, Lisboa.
- Rajeshwari, K. V., Balakrishnan, M., Kansal, A., Lata, Kusum, Kishore, V. V. N. (2000) *State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment*. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 4, 135-156.
- Ruiz, C., Torrijos, M., Sousbie, P., Martinez, J. Lebrato, Moletta, R. (2001) *The anaerobic SBR principles: basic principles for design and automation*. Water Science and Technology, 43 (3), 201-208.
- Solera, R., Romero, L. I., Sales, D. (2002) *The evolution of biomass in a two-phase anaerobic treatment process during start-up*. Chemical and Biochemical Engineering Quarterly, 16 (1), 25-29.
- Song, Young-Chae, Kwon, Sang-Jo, Woo, Jung-Hui (2004) *Mesophilic and thermophilic temperature co-phase anaerobic digestion compared with single-stage mesophilic- and thermophilic digestion of sewage sludge*. Water Research, 38, 1653-1662.
- Sung, Shihwu, Dague, Richard R. (1995) *Laboratory studies on the anaerobic sequencing batch reactor*. Water Environment Research, 67 (3), 294-301.
- Templer, Jennifer, Lalman, Jerald A., Jing, Nin, Ndegwa (2006) *Influence of C18 long chain fatty acids on hydrogen metabolism*. Biotechnology Progress, 22 (1), 199-207.

- Thomas, Gareth **(2003)** *Fundamentals of medicinal chemistry*. John Wiley & Sons Ltd, UK
- Timur, H., Ozturk, I., Altinbas, M., Arikan, O., Tuyluoglu, B. S. **(2000)** *Anaerobic treatability of leachate: a comparative evaluation for three different reactor systems*. Water Science and Technology, 42 (1-2), 287-292.
- v. Münch, Elisabeth, Greenfield, Paul F. **(1998)** *Estimating VFA concentrations in prefermenters by measuring pH*. Water Research, 32 (8), 2431-2441.
- van Lier, J. B., Boersma, F., Debets, M. M. W. H., Lettinga, G. **(1994)** *High rate thermophilic anaerobic wastewater treatment in compartmentalized upflow reactors*. Water Science and Technology, 30 (12), 251-261.
- van Lier, Jules B. **(2008)** *High-rate anaerobic wastewater treatment: diversifying from end-of-the-pipe treatment to resource-oriented conversion techniques*. Water Science and Technology, 57 (8), 1137-1148.
- van Lier, Jules B., Grolle, Katja C. F., Frijters, Carla T. M. J., Stams, Alfons J. M., Lettinga, Gatzke **(1993)** *Effects of acetate, propionate, and butyrate on the thermophilic anaerobic degradation of propionate by methanogenic sludge and defined cultures*. Applied and Environmental Microbiology, 59 (4), 1003-1011.
- van Lier, Jules B., Martin, Jose Luis Sanz, Lettinga, Gatzke **(1996)** *Effect of temperature on the anaerobic thermophilic conversion of volatile fatty acids by dispersed and granular sludge*. Water Research, 30 (1), 199-207.
- Vidal, G., Carvalho, A., Méndez, R., Lema, J. M. **(2000)** *Influence of the content in fats and proteins on the anaerobic biodegradability of dairy wastewaters*. Bioresource Technology, 74, 231-239.
- Wang, Qunhui, Kuninobu, Masaaki, Ogawa, Hiroaki I., Kato, Yasuhiko **(1999)** *Degradation of volatile fatty acids in highly efficient anaerobic digestion*. Biomass and Bioenergy, 16, 407-416.
- Wilson, C. A., Murthy, S. M., Fang, Y., Novak, J. T. **(2008)** *The effect of temperature on the performance and stability of thermophilic anaerobic digestion*. Water Science and Technology, 57 (2), 297-304.
- Yu, Han Qing, Fang, Herbert H. P. **(2001)** *Acidification of mid- and high-strength dairy wastewaters*. Water Research, 35 (15), 3697-3705.
- Zaiat, M., Rodrigues, J. A. D., Ratusznei, S. M., Camargo, E. F. M., Borzani, W. **(2001)** *Anaerobic sequencing batch reactors for wastewater treatment: a developing technology*. Applied Microbiology and Biotechnology, 55, 29-35.

ANEXOS

ANEXO I - MÉTODOS ANALÍTICOS

A determinação de cada um dos parâmetros que serviu para monitorizar a performance dos reactores foi realizada segundo as metodologias descritas na 21ª Edição do *Standard methods for the examination of water and wastewater*, e são descritas nos pontos seguintes.

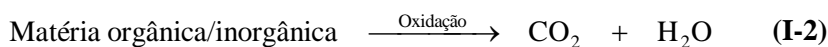
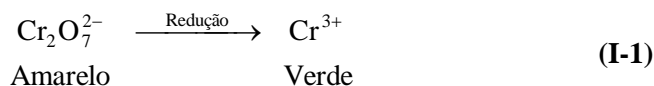
i. Sólidos Suspensos Totais e Voláteis - SST / SSV

Os sólidos suspensos totais (SST) e sólidos suspensos voláteis (SSV) foram determinados utilizando os Métodos 2540 D e 2540 E, respectivamente. No caso dos SST, a sua determinação consiste na filtração de um volume conhecido de amostra representativa utilizando membranas filtrantes de microfibras de vidro standard. O resíduo obtido é seco até peso constante a 103-105°C.

A determinação dos SSV consiste na calcinação a 550°C do resíduo obtido na determinação dos SST, após secagem e pesagem. Os sólidos remanescentes representam os sólidos suspensos fixos, enquanto o peso perdido na ignição representa os sólidos suspensos voláteis.

ii. Carência Química de Oxigénio - CQO

A carência química de oxigénio (CQO) é definida como a quantidade de um determinado agente oxidante específico que reage com uma amostra em condições controladas. Neste trabalho foi utilizado o Método 5220 D - Método do Refluxo Fechado (Método colorimétrico). Neste método é utilizado o ião dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) como agente oxidante, que se reduz a ião crómio (Cr^{3+}) durante a reacção com a amostra, conforme as reacções:



Após a reacção se completar, o CQO é determinado por espectrofotometria, a 430nm quando se determina o excesso de dicromato não reagido, ou a 605nm quando se determina o crómio formado. A reacção ocorre em meio ácido (com adição de ácido sulfúrico) e na presença de sulfato de mercúrio (para eliminar a interferência dos cloretos) e de sulfato de prata (serve como catalisador para promover a oxidação de álcoois e ácidos gordos de cadeia longa, por exemplo). Na determinação do CQO é oxidada não só a matéria orgânica mas também a matéria inorgânica das amostras.

iii. Alcalinidade e pH

A alcalinidade é a capacidade que um meio aquoso possui para resistir a variações de pH. A sua determinação não é mais do que a quantificação da capacidade tampão de uma solução. Neste trabalho, a alcalinidade foi determinada pelo Método 2320 B, por titulação com uma solução aquosa de HCl padronizada até pH=4,5, medido com um medidor CONSORT C535 acoplado a um eléctrodo de xerolite.

iv. Azoto Kjeldahl

A determinação do azoto de Kjeldahl consiste na determinação do azoto orgânico e do azoto amoniacal, em simultâneo. É assim designado devido ao método utilizado: método de Kjeldahl. As formas orgânicas do azoto incluem vários componentes naturais como as proteínas, péptidos, ácidos nucleicos e ureia, e numerosos materiais orgânicos sintéticos.

Neste trabalho, este parâmetro foi determinado pelo Método 4500-N_{org} B, Método Kjeldahl Macro, que não determina, entre outros, o azoto na forma de nitratos, nitritos, azidas, etc. O método baseia-se na conversão do azoto em ião amónio (NH₄⁺) durante a digestão da amostra na presença de ácido sulfúrico e de um catalisador, a uma temperatura de 420°C. Após a digestão, o ião amónio é convertido em amoníaco, em vaso fechado, por

neutralização com hidróxido de sódio. A solução neutralizada é destilada e o amoníaco é recolhido numa solução de ácido bórico. Esta solução de ácido bórico é titulada com ácido clorídrico e o volume gasto deste titulante é directamente proporcional à quantidade de azoto existente na amostra.

v. Fósforo Total

O fósforo está presente em águas naturais e efluentes quase sempre na forma de fosfatos. A sua determinação consiste essencialmente em duas etapas: a conversão das várias formas de fósforo em ortofosfatos dissolvidos e a determinação destes por colorimetria.

Neste trabalho, o fósforo total foi determinado pelo Método 4500-P E, Método do Ácido Ascórbico, precedido da digestão das amostras em meio ácido, com ácido sulfúrico e ácido nítrico. Desta forma, o fósforo que poderá aparecer combinado com matéria orgânica, é libertado como ortofosfatos. Os ortofosfatos são posteriormente quantificados por reacção com uma solução ácida, contendo molibdato de amónio e ácido ascórbico, que dá uma cor azul à solução. A determinação por espectrofotometria é realizada a 880nm e a absorvância directamente proporcional à concentração de fósforo na solução.

vi. Ácidos Orgânicos Voláteis - AOV

A determinação de AOV foi realizada em amostras de efluente tratado e consistiu na determinação da concentração de 6 ácidos: acético, propiónico, *iso*-butírico, *n*-butírico, *iso*-valérico e *n*-valérico.

As amostras foram filtradas, recolhidas em frascos de polietileno, acidificadas com ácido fórmico na proporção de 1:10 (v/v) e refrigeradas para preservação até à data de análise. A calibração do cromatógrafo já havia sido feita no início de outro trabalho experimental, pouco antes da determinação dos ácidos deste trabalho. De qualquer das formas, em cada dia de análise foram injectadas várias amostras de padrões de concentração conhecida.

As rectas de calibração utilizadas para a obtenção da concentração de cada ácido, a partir da área do pico correspondente ao mesmo ácido, são apresentadas na Tabela I-1:

Tabela I- 1 Rectas de calibração utilizadas no cálculo da concentração de cada AOV.

Ácido	Recta de calibração	r^2	
Acético	Área = $1522,65 \times [\text{acético}] + 107019,96$	1,0000	(I-3)
Propiónico	Área = $2729,56 \times [\text{propiónico}] + 125880,57$	1,0000	(I-4)
<i>Iso</i> -butírico	Área = $3519,03 \times [\text{iso - butírico}] + 73570,69$	1,0000	(I-5)
<i>n</i> -butírico	Área = $3294,83 \times [\text{n - butírico}] + 89344,28$	0,9999	(I-6)
<i>Iso</i> -valérico	Área = $3456,27 \times [\text{iso - valérico}] + 195555,51$	0,9999	(I-7)
<i>n</i> -valérico	Área = $5142,75 \times [\text{n - valérico}] + 544596,12$	0,9999	(I-8)

A determinação foi realizada por cromatografia gás-líquido, utilizando um cromatógrafo com detector de ionização de chama (FID), da marca Chrompack, modelo CP9001. As condições de operação são apresentadas na Tabela I-2:

Tabela I- 2 Condições de operação do cromatógrafo gás-líquido para determinação de AOV.

Tipo de coluna	Chrompack CO-sil5 CB (25m×0,53mmID)
Volume de amostra	0,5 µL
Temperaturas	Detector: 300°C Injector: 270°C Coluna: 290°C Forno: 70°C
Programa	70°C - 1 min rampa de 20°C/min 100°C - 1,5 min rampa de 10°C/min 140°C - 2 min
Gases	Hélio - gás de arraste - 8 mL/min Azoto - gás <i>make-up</i> - 30 mL/min Hidrogénio - gás de chama - 30 mL/min Ar - gás de chama - 300 mL/min
Software de integração	Jasco-Borwin, versão 1.50

vii. Composição do biogás

A determinação da composição do biogás, neste trabalho apenas em termos de percentagens de CH₄ e CO₂, foi realizada em amostras recolhidas na linha de biogás. As rectas de calibração utilizadas para a obtenção desta composição, a partir da área do pico correspondente a cada gás, são apresentadas na Tabela I-3:

Tabela I- 3 Rectas de calibração utilizadas no cálculo da composição do biogás.

Gás	Recta de calibração
Metano	$\%CH_4 = 1,0126 \times \%Área_{CH_4} + 1,7659$ (I-9)
Dióxido de carbono	$\%CO_2 = 1,0173 \times \%Área_{CO_2} - 3,0383$ (I-10)

A determinação foi realizada por cromatografia gasosa, utilizando um cromatógrafo com um detector de condutividade térmica (TCD), da marca SRI, modelo 8610 C. As condições de operação do cromatógrafo são apresentadas na Tabela I-4:

Tabela I- 4 Condições de operação do cromatógrafo gasoso para determinação da composição de biogás.

Tipo de coluna	Coluna capilar, 0,53 mm de diâmetro interno
Volume de amostra	1 mL
Temperatura	Forno: 60°C durante 10 min
Gás	Hélio - gás de arraste - 10 mL/min
Software de integração	Peak Simple, versão 3.29

ANEXO II - FACTORES DE CONVERSÃO

i. Concentração de cada AOV em termos de HAc

A concentração de cada ácido volátil pode ser expressa em termos de concentração em ácido acético. Esta relação pode ser obtida dividindo a concentração de cada ácido (isto é, acético, propiónico, butírico e valérico) pelo seu peso molecular e multiplicando pelo peso molecular do ácido acético (v. Münch e Greenfield, 1998):

$$[\text{HProp}_{\text{HAc}}]_{\text{mgHAc/L}} = \frac{\text{MM}(\text{HAc})}{\text{MM}(\text{HProp})} \times [\text{HProp}]_{\text{mgHProp/L}} \quad (\text{II-1})$$

Para os restantes ácidos o procedimento é semelhante. As relações obtidas são:

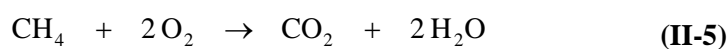
$$[\text{HProp}_{\text{HAc}}] = 0,8106 \times [\text{HProp}] \quad (\text{II-2})$$

$$[\text{HBut}_{\text{HAc}}] = 0,6815 \times [\text{HBut}] \quad (\text{II-3})$$

$$[\text{HVal}_{\text{HAc}}] = 0,5880 \times [\text{HVal}] \quad (\text{II-4})$$

ii. CQO equivalente ao CH₄ produzido

A quantidade de CH₄ produzida pode ser determinada através de um balanço de CQO como CH₄:



isto é, $1 \text{ mol CH}_4 - 2 \text{ mol O}_2$ ou $16 \text{ g CH}_4 - 64 \text{ g O}_2 = 64 \text{ g CQO}$

Assim, o factor de conversão entre CQO e CH₄ é:

$$\text{CH}_4\text{-CQO} = 0,25 \text{ gCH}_4/\text{gCQO} \quad (\text{II-6})$$

Considerando o CH₄ como um gás ideal e que, dessa forma, cada mole de CH₄ ocupa um volume de 22,4 L (PTN), podem obter-se outras relações úteis (P = 1 atm):

$$0^\circ\text{C} \quad - \quad 0,350 \text{ L/gCQO} \quad (\text{II-7})$$

$$25^\circ\text{C} \quad - \quad 0,382 \text{ L/gCQO} \quad (\text{II-8})$$

$$35^\circ\text{C} \quad - \quad 0,395 \text{ L/gCQO} \quad (\text{II-9})$$

$$55^\circ\text{C} \quad - \quad 0,420 \text{ L/gCQO} \quad (\text{II-10})$$

ANEXO III - RESULTADOS EXPERIMENTAIS

Tabela III- 1 Resultados de estado estacionário do Reactor A - Mesofílico, inóculo adaptado, TRH=25d.

[Alim] (mgCQO/L)	Carga volumica (gCQO/L/d)	F/M ⁽¹⁾	CQO _f (mg/L)		%R _{CQO}	V _{biogás_PTN} (mL/d)		%CH ₄		V _{CH₄_PTN} (mL/d)		CH ₄ _CQO (mg/d)	%Metan ⁽²⁾	Produção específica CH ₄ ⁽³⁾	AOV _T (mgHAc/L)	
			Média	σ		Média	σ	Média	σ	Média	σ				Média	σ
5030	0,20	0,027	52	23	99	586	44	75,9	7,6	348	13	1000	100	0,027	18,3	24,4
6002	0,24	0,032	40	2	99	572	88	69,5	4,9	395	36	1136	95	0,030	6,9	6,4
7200	0,29	0,038	39	2	99	625	100	68,1	5,2	423	36	1217	85	0,032	4,1	5,8
8500	0,34	0,045	39	0	100	621	69	64,6	2,3	400	30	1150	68	0,031	0,0	0,0
10200	0,41	0,054	62	22	99	773	78	63,6	3,7	493	78	1416	70	0,038	0,0	0,0
12500	0,50	0,067	50	3	100	665	69	60,2	0,7	401	46	1152	46	0,031	0,0	0,0
15000	0,60	0,080	58	1	100	1066	112	59,8	0,0	637	67	1832	61	0,049	30,3	2,3
18000	0,72	0,096	74	27	100	1361	56	60,8	1,4	827	14	2377	66	0,063	202,0	1,2
21500	0,86	0,115	69	13	100	1572	154	58,5	0,8	919	85	2641	62	0,070	2,0	3,5
25000	1,00	0,129	105	7	100	1794	61	57,8	0,8	1041	47	2994	60	0,077	31,3	29,0
30000	1,20	0,155	146	22	100	2473	49	57,4	0,3	1421	29	4084	68	0,105	6,2	8,9
36000	1,44	0,186	92	4	100	2770	69	58,3	2,2	1585	37	4555	63	0,117	8,2	14,3
43500	1,74	0,203	204	22	100	3483	193	59,0	0,4	2053	104	5902	68	0,137	5,8	13,0
52500	2,10	0,203	188	24	100	3803	282	60,4	0,7	2295	156	6596	63	0,128	2,1	4,7
65000	2,60	0,252	991	19	98	4882	59	59,5	0,5	2907	53	8355	65	0,162	51,4	2,1
78000	3,12	0,269	1953	508	97	3965	392	55,4	5,3	2227	274	6402	42	0,110	1366,4	265,5

σ - Desvio padrão

⁽¹⁾ gCQO/gSSV/d

⁽²⁾ Percentagem de metanização calculada com base no CQO removido

⁽³⁾ gCH₄_CQO/gSSV/d

Tabela III- 2 Resultados de estado estacionário do Reactor B - Mesofílico, inóculo não adaptado, TRH=25d.

[Alim] (mgCQO/L)	Carga volúmica (gCQO/L/d)	F/M ⁽¹⁾	CQO _f (mg/L)		%R _{CQO}	V _{biogás_PTN} (mL/d)		%CH ₄		V _{CH₄_PTN} (mL/d)		CH ₄ _CQO (mg/d)	%Metan ⁽²⁾	Produção específica CH ₄ ⁽³⁾	AOV _T (mgHAc/L)	
			Média	σ		Média	σ	Média	σ	Média	σ				Média	σ
5030	0,20	0,027	89	30	98	719	13	76,7	1,6	371	41	899	91	0,024	5,2	0,0
6002	0,24	0,032	152	39	97	564	93	66,9	1,2	378	66	1085	93	0,029	20,1	34,4
7200	0,29	0,038	122	16	98	654	128	65,4	1,1	427	76	1228	87	0,033	0,2	0,3
8500	0,34	0,045	103	4	99	700	69	63,7	0,1	446	45	1282	76	0,034	0,0	0,0
10200	0,41	0,054	106	4	99	841	56	62,6	1,2	527	46	1515	75	0,040	0,0	0,0
12500	0,50	0,067	108	25	99	960	37	59,7	0,1	574	23	1649	67	0,044	0,0	0,0
15000	0,60	0,080	127	9	99	1193	6	59,9	0,0	715	4	2054	69	0,055	15,6	16,1
18000	0,72	0,096	153	20	99	1352	168	60,6	1,0	818	88	2352	66	0,063	11,7	0,0
21500	0,86	0,115	161	41	99	1587	124	60,4	0,7	959	83	2758	65	0,074	15,3	26,5
25000	1,00	0,146	334	38	99	1600	112	59,5	1,2	959	87	2756	56	0,080	126,3	178,7
30000	1,20	0,175	483	24	98	2156	87	58,1	0,2	1253	54	3601	61	0,105	5,1	4,5
36000	1,44	0,210	400	27	99	2100	137	58,6	2,3	1230	75	3535	50	0,103	0,0	0,0
43500	1,74	0,168	797	43	98	2723	112	58,5	0,4	1592	57	4575	54	0,088	3,7	7,5
52500	2,10	0,185	864	95	98	3239	132	58,6	0,4	1898	79	5456	53	0,096	1,7	3,8

σ - Desvio padrão

⁽¹⁾ gCQO/gSSV/d⁽²⁾ Percentagem de metanização calculada com base no CQO removido⁽³⁾ gCH₄_CQO/gSSV/d

Tabela III- 3 Resultados de estado estacionário do Reactor C - Termofílico, inóculo não adaptado, TRH=25d.

[Alim] (mgCQO/L)	Carga volúmica (gCQO/L/d)	F/M ⁽¹⁾	CQO _f (mg/L)		%R _{CQO}	V _{biogás_PTN} (mL/d)		%CH ₄		V _{CH₄_PTN} (mL/d)		CH ₄ _CQO (mg/d)	%Metan ⁽²⁾	Produção específica CH ₄ ⁽³⁾	AOV _T (mgHAc/L)	
			Média	σ		Média	σ	Média	σ	Média	σ				Média	σ
5000	0,20	0,027	1061	27	79	431	47	67,5	1,3	271	29	776	99	0,021	225,1	142,0
6000	0,24	0,032	973	45	84	433	14	67,0	2,3	290	20	831	83	0,022	29,4	0,0
7200	0,29	0,038	795	11	89	416	71	65,5	1,8	273	54	782	61	0,021	0,0	0,0
8500	0,34	0,045	728	3	91	425	59	63,4	4,8	271	58	774	50	0,021	0,0	0,0
10200	0,41	0,054	757	13	93	549	71	58,0	0,5	319	44	912	48	0,024	62,7	0,0
12500	0,50	0,067	733	30	94	733	0	55,2	0,3	404	2	1156	49	0,031	4,9	0,0
15000	0,60	0,080	856	60	94	982	24	57,2	3,4	562	47	1608	57	0,043	21,9	0,0
18000	0,72	0,096	836	169	95	1465	0	55,0	1,3	806	19	2304	67	0,061	153,8	0,0
21500	0,86	0,111	2375	159	89	1532	88	54,3	1,8	831	58	2378	62	0,061	760,7	114,1
25000	1,00	0,107	1775	112	93	1685	69	55,4	0,8	933	43	2669	57	0,057	0,4	0,6
30000	1,20	0,149	1955	76	93	1816	160	53,4	0,7	996	88	2848	51	0,071	455,0	272,8
36000	1,44	0,168	2004	189	94	2198	259	58,2	1,4	1214	156	3472	51	0,081	75,6	21,5

σ - Desvio padrão

⁽¹⁾ gCQO/gSSV/d⁽²⁾ Percentagem de metanização calculada com base no CQO removido⁽³⁾ gCH₄_CQO/gSSV/d

Tabela III- 4 Resultados de estado estacionário do Reactor D - Mesofílico, inóculo adaptado, TRH=10d.

[Alim] (mgCQO/L)	Carga volumica (gCQO/L/d)	F/M (⁽¹⁾)	CQO _f (mg/L)		%R _{CQO}	V _{biogás_PT} (mL/d)		%CH ₄		V _{CH₄_PT} (mL/d)		CH ₄ _CQO (mg/d)	%Metan (⁽²⁾)	Produção específica CH ₄ (⁽³⁾)	AOV _T (mgHAc/L)	
			Média	σ		Média	σ	Média	σ	Média	σ				Média	σ
2000	0,20	0,020	nq	-	nq	524	19	74,8	0,0	392	14	1127	100	0,023	nq	-
2400	0,24	0,024	30	0	99	436	69	68,2	1,5	298	53	856	72	0,017	40,7	0,0
2900	0,29	0,029	25	5	99	424	71	67,1	0,0	297	61	853	59	0,017	0,0	0,0
3400	0,34	0,040	33	4	99	564	12	63,7	0,3	359	10	1033	61	0,024	0,0	0,0
4100	0,41	0,048	31	0	99	735	44	64,5	1,9	475	42	1366	67	0,032	0,0	0,0
5000	0,50	0,058	29	3	99	804	56	64,2	1,9	517	49	1486	60	0,035	9,9	0,7
6000	0,60	0,070	37	0	99	850	19	60,4	0,2	514	10	1477	50	0,034	0,0	0,0
7200	0,72	0,084	45	17	99	969	10	60,1	0,0	585	10	1682	47	0,039	28,2	25,7
8600	0,86	0,109	58	13	99	1114	90	60,3	0,4	672	52	1931	45	0,045	42,0	6,6
10000	1,00	0,126	64	4	99	1706	43	58,2	0,6	992	15	2852	57	0,072	38,6	7,3
12000	1,20	0,148	47	7	100	2231	102	58,2	0,8	1298	55	3731	62	0,092	84,2	23,8
14400	1,44	0,165	42	4	100	1484	115	59,0	0,7	876	77	2518	35	0,058	49,6	22,6
17400	1,74	0,166	77	8	100	2906	89	58,3	0,2	1693	48	4866	56	0,093	571,5	935,1
21000	2,10	0,182	87	9	100	3056	234	59,1	1,7	1808	125	5197	50	0,090	84,9	164,8
26000	2,60	0,258	122	9	100	3724	256	58,6	1,0	2171	166	6241	48	0,124	nq	-
31200	3,12	0,376	993	4	97	5293	162	59,1	3,2	3014	245	8664	57	0,209	nq	-

σ - Desvio padrão

nq - Não quantificado

⁽¹⁾ gCQO/gSSV/d⁽²⁾ Percentagem de metanização calculada com base no CQO removido⁽³⁾ gCH₄_CQO/gSSV/d

Tabela III- 5 Resultados de estado estacionário do Reactor E - Termofílico, inóculo adaptado, TRH=25d.

[Alim] (mgCQO/L)	Carga volumica (gCQO/L/d)	F/M ⁽¹⁾	CQO _r (mg/L)		%R _{CQO}	V _{biogás_PTN} (mL/d)		%CH ₄		V _{CH₄_PTN} (mL/d)		CH ₄ _CQO (mg/d)	%Metan ⁽²⁾	Produção específica CH ₄ ⁽³⁾	AOV _T (mgHAc/L)	
			Média	σ		Média	σ	Média	σ	Média	σ				Média	σ
5000	0,20	0,020	nq	-	nq	337	135	58,9	0,0	198	80	nq	nq	nq	nq	-
6000	0,24	0,024	111	0	98	225	35	51,1	2,3	115	23	329	28	0,007	606,6	0,0
7200	0,29	0,029	112	1	98	228	29	49,4	0,0	105	21	299	21	0,006	859,8	159,9
8500	0,34	0,043	458	0	95	287	18	37,1	0,0	106	7	305	19	0,008	1285,7	126,9
10200	0,41	0,052	456	0	96	635	57	45,5	6,9	271	42	776	40	0,020	1720,5	283,8
12500	0,50	0,064	544	183	96	1561	430	70,8	6,5	1091	173	2395	100	0,061	300,4	318,2
15000	0,60	0,076	901	47	94	1207	318	59,4	0,0	717	189	2051	73	0,052	137,2	0,0
18000	0,72	0,092	907	116	95	1332	71	60,1	0,9	800	30	2288	67	0,058	125,4	0,0
21500	0,86	0,131	1368	28	94	1775	201	59,2	6,1	1076	98	3079	76	0,094	269,9	88,2
25000	1,00	0,179	1862	92	93	1676	298	51,7	3,6	968	31	2768	60	0,099	266,6	142,6
30000	1,20	0,151	1839	10	94	2364	47	57,8	4,5	1328	129	3800	67	0,096	65,1	36,5
36000	1,44	0,179	2099	38	94	2795	105	58,6	3,5	1556	125	4450	66	0,111	nq	-
43500	1,74	0,216	2357	47	95	3228	148	61,6	3,5	1993	204	5699	69	0,142	nq	-

σ - Desvio padrão

nq - Não quantificado

⁽¹⁾ gCQO/gSSV/d⁽²⁾ Percentagem de metanização calculada com base no CQO removido⁽³⁾ gCH₄_CQO/gSSV/d